

# 食 品 安 全 委 員 会 添 加 物 専 門 調 査 会

## 第 97 回 会 合 議 事 録

1. 日時 平成 23 年 7 月 26 日（火） 13：59～17：06

2. 場所 食品安全委員会中会議室

3. 議事

(1) カルミンに係る食品健康影響評価について

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

今井田座長、石塚専門委員、伊藤専門委員、梅村専門委員、江馬専門委員、  
久保田専門委員、塚本専門委員、中江専門委員、林専門委員、三森専門委員、  
森田専門委員、山添専門委員、山田専門委員

(食品安全委員会委員)

小泉委員長、熊谷委員、長尾委員、廣瀬委員

(専門参考人)

小林健一（独立行政法人労働安全衛生総合研究所）

(事務局)

栗本事務局長、中島事務局次長、坂本評価課長、前田評価調整官、角井課長補佐、  
中矢係長、伊藤係員、藤田技術参与

5. 配布資料

資料 1-1 カルミン 指定のための検討報告書

資料 1-2 添加物評価書「カルミン」（案）

資料 1-3 追加関連論文（カルミン）（その 1）

参考資料 1-1 添加物「カルミン」についてのアレルギー性に係る試験成績につい  
て

6. 議事内容

○今井田座長 定刻より若干早いようですが、委員の先生方お集まりですので、ただいまから第 97 回添加物専門調査会を開催いたします。

先生方には御多忙中、また暑いところを御出席いただきまして、ありがとうございます。

本日は、13名の専門委員に御出席いただいております。

また、本日は、専門参考人といたしまして独立行政法人労働安全衛生総合研究所の小林健一先生に御出席いただいております。小林先生、よろしくお願いたします。

井上専門委員、頭金専門委員は御都合により御欠席との連絡をいただいております。

石塚専門委員は、所用により16時頃に退室されるということでございます。

また、食品安全委員会からも委員の先生方が御出席でございます。

それでは、お手元に第97回添加物専門調査会の議事次第を配布しておりますので、ごらんください。

議事に入ります前に、事務局より資料の確認をお願いいたします。

○角井課長補佐 お手元の議事次第の「4.」に「配布資料」とございまして、お配りしている資料一覧がございます。御参照いただければと思います。

議事次第の後に座席表、それから専門委員名簿とございまして、資料1-1が「カルミン指定のための検討報告書」、資料1-2が「添加物評価書「カルミン」（案）」、資料1-3が「追加関連論文（カルミン）（その1）」、それから参考資料1-1としまして「添加物「カルミン」についてのアレルギー性に係る試験成績について」というものでございます。

資料の過不足等ございましたら、随時、事務局に御指示いただければと思います。

なお、以上申し上げました資料以外で専門委員等のお手元にあるものにつきましては、大部になりますこと等から、傍聴の方にはお配りしておりません。調査審議中に引用されたもので公表のものにつきましては、専門調査会終了後、事務局で閲覧できるようにしておりますので、傍聴者の中で必要とされる方は、この会議終了後に事務局までお申し出いただければと思います。

○今井田座長 それでは、議事（1）「カルミンに係る食品健康影響評価について」に入ります。

調査審議に入ります前に、提出資料として利用されたものの作成に協力した方として、梅村専門委員及び林専門委員が該当することを報告いたします。

座長といたしましては、梅村専門委員、林専門委員ともに該当の資料について発言していただくことが必要と考えております。本専門調査会としても、そのように考えるということではよろしいでしょうか。

（「はい」と声あり）

○今井田座長 ありがとうございます。それでは、承諾を得られたものといたします。

事務局から説明をお願いいたします。

○角田課長補佐 資料1-2、評価書案をごらんいただければと思います。

3ページをごらんください。審議の経緯でございますが、今年4月19日付で厚生労働大臣から評価要請がございまして、4月21日に第379回食品安全委員会において厚生労働省から要請事項の説明があったものでございます。その後、7月4日に関係書類をいた

だきまして、今回の専門調査会で御審議となつてございます。

関係書類の接受でございますが、厚生労働省から関係の文献等をいただいております。本日お配りしております資料 1-3 は、それに加えて、食品安全委員会事務局の担当のほうで気づいた文献を追加で御用意させていただいているものの一覧でございます。これらを踏まえまして、資料 1-2 の評価書案を御準備させていただいているところでございます。

それでは、資料 1-2、評価書案の 5 ページをごらんください。

まず「I. 評価対象品目の概要」でございます。

「1. 用途」は、着色料でございます。

「2. 主たる染色素」は和名「カルミン酸」でございます。具体的には、資料 1-1 の 7 ページの下のほうにカルミン酸の構造式がございますが、このような anthraquinone 系の構造をしたものであるということでございます。

資料 1-2 の 5 ページに戻りまして、「3. 分子式」「4. 分子量」はお示ししているとおりでございます。

「5. 性状等」でございますが、評価要請者による添加物「カルミン」の成分規格案では、定義として「エンジムシの雌乾燥虫体から得られたカルミン酸のアルミニウムレーキ化合物又はアルミニウム・カルシウムレーキ化合物を主成分とするものである。」、含量として「本品を乾燥したものは、カルミン酸として 50%以上を含む。」。性状として「赤～暗赤色のもろい固体又は粉末である。」とされております。また、「たん白質 25.0%以下」とされております。

資料 1-1 の 9 ページをごらんください。その他、評価要請者である厚生労働省で示されたカルミンの成分規格案の全体は、このようになっているところでございます。

資料 1-2 に戻りまして、6 ページでございます。

表 1「国際機関等における添加物「カルミン」又は「カルミン類」の成分規格（一部のみに）」ということで、比較したものでございます。JFCFA、米国、EU の成分規格につきまして「定義」、「含量」、「たん白質」について記載しております。

ごらんいただくとわかりますように、まず、「定義」でございますが、名前が若干異なっております。JECFA と EU では「カルミン類」Carmines でございますが、アメリカは「カルミン」という名前になっております。「定義」の中身につきましても、それぞれの規格に微妙な違いがございます。JECFA とアメリカにおきましては、コチニール（虫）を水抽出したものであるとされておりますが、EU におきましては、水抽出に加えまして水アルコール抽出物又はアルコール抽出物も許容しております。

それから、米国はかなりシンプルな書き方をしておりますが、JECFA、EU はかなり細かく書いてございまして、染色素…カルミン酸でございますが、それとアルミニウムの比が書いてございまして、市販製品においてはアンモニウムイオン、カルシウムイオン、カリウムイオン、ナトリウムイオンのうち一又は二以上の組み合わせと共存している、それ

から、市販製品は原料の虫由来のたん白性物質を含むことがある、こういった内容が規定されているところがございます。

それから、含量でございますが、JECFA におきましてはカルミン酸、乾燥重量ベースで 50%以上、米国は特に何もいわずにカルミン酸 50.0%以上、EU はキレート類中カルミン酸 50%以上という規定になってございます。

たん白質でございますが、JECFA のみ「25%以下」という規定がございますが、アメリカと EU におきましては規格がないそうでございます。

6 ページの下のほうに参りまして、4 行目です。

JECFA のモノグラフによりますと、アンモニウムカルミンは広範な pH にわたって水に溶けるが、カルシウムカルミンは pH 7 未満でやや溶けるという違いがみられるとされているところがございます。なお、カルミン酸をアンモニア水溶液中で加熱すると、4-アミノカルミン酸が生成したとする報告がございます。

類似の添加物でございますが、「コチニール抽出物」、我が国の場合には「コチニール色素」というものがございまして、7 ページは、同様に成分規格を比較したものでございます。

やはり JECFA とアメリカにおきましては「コチニール抽出物」——Cochineal extract という名前でございますが、我が国では「コチニール色素」——Cochineal color。ただ、英名では「Cochineal extract」とも書かれているところがございます。

やはり微妙に定義に差があることがおわかりいただけるかと思えます。

含量につきましても、JECFA ではカルミン酸 2.0%以上、米国では 1.8%以上、我が国におきましては色価が 80 以上であるということで、4「\*」で下に脚注がございますが、この 80 がどのくらいに相当するかということになりますと、カルミン酸で 6.8%という報告がございますし、約 5.7%相当という対応になるということでございます。

たん白質につきましては、いずれの規格におきましても「2.2%以下」という規定でございます。

7 ページの 4 行目以降でございますが、評価要請者によりますと、カルミンの色調は熱や光に対して安定、カルミンは直接光にあたる包装形態の食品、酸性の食品からアルカリ性の食品まで使用できるとされているところがございます。

資料 1-1 の 11 ページ、23 行目をごらんください。評価要請者のほうでは、カルミンの色調以外の安定性及びその分解物に係る知見について、PubMed、J-Dream II で検索を実施したものの見当たらなかったということがございます。

評価書案に戻りまして、7 ページの 6 行目ですが、評価要請者は、カルミンと食品中の栄養成分との特段の反応性は知られていないとしているところがございます。

9 行目「6. 評価要請の経緯」でございます。

13 行目ですが、米国では、添加物「カルミン」及び「コチニール抽出物」は、法の規定に基づく基準で使用が禁止されない範囲において、GMP に見合った量を食品の着色に

一般的に使用することが認められているということでございます。

18 行目。EU では、添加物の「コチニール、カルミン酸及びカルミン類」、E120 の添加物でございますが、これは単独又は他の特定の着色料と組み合わせたりして、以下にございますようにさまざまな食品に、ほとんど上限をつけて使用を認めているという実態でございます。

8 ページに参りまして、9 行目ですが、我が国では類似の添加物、先ほど申し上げましたとおり、添加物「コチニール色素」があるという状況でございます。

12 行目以降にございますが、本品目はいわゆる国際汎用添加物でございますが、17 行目にありますように、今般、厚生労働省において添加物「カルミン」についての評価資料が取りまとめられたことから、食品安全基本法第 24 条第 1 項第 1 号の規定に基づき、食品安全委員会に対して、食品健康影響評価の依頼がなされたものでございます。

21 行目「7. 添加物指定の概要」でございます。厚生労働省は、食品安全委員会の食品健康影響評価結果の通知を受けた後に、添加物「カルミン」について、添加物としての指定の可否及び規格基準の設定について検討することとしています。

この規格基準は、脚注「4」に記載しておりますが、評価要請者である厚生労働省は、本品目の使用基準案を、添加物「コチニール色素」と同様に「こんぶ類、食肉、鮮魚介類（鯨肉を含む。）、茶、のり類、豆類、野菜及びわかめ類に使用してはならない。」という規定案を予定しているということでございます。

引き続きまして 27 行目「II. 安全性に係る知見の概要」でございます。

まず 28 行目「1. 体内動態」でございます。

添加物「カルミン」を被験物質とした体内動態に関する試験成績を入手することはできなかった。カルミン等及びコチニール色素の体内動態に関連した所見が得られた試験成績、具体的には毒性試験の成績ですが、以下のような報告があるということでございます。

33 行目「（1）カルミン等」。

Battelle（1962）は、アンモニアを含むコチニールカルミンについてのラットを用いた 13 週間試験を実施しており、被験物質の投与期間中に投与群の尿及び糞便の着色がみられたとしている。また、剖検及び病理組織学的検査においては、5,000 mg/kg 体重/日以上の投与群の組織・器官に色素沈着が認められたとしている。

40 行目ですが、カルミンは、長年にわたって単純性便秘の小児の便通過時間の測定に用いられているようでございます。

9 ページの 1 行目「（2）コチニール色素」。

野田ら（1984）の報告によりますと、添加物「コチニール色素」についてのラットを用いた単回強制経口投与試験が実施されており、いずれの投与群の尿及び糞便ともに着色が認められたとされております。尿については、投与 20 分後頃から着色がみられ、投与 2 日後には着色はほとんどみられなくなり、3 日後には着色はみられなくなったとされております。糞便については、投与 10 分～2 時間後から着色がみられ、投与 2 日後には着

色はみられなくなるとされています。

体内動態の担当の先生からは、まとめ文はここでは用意せずに、後ほどディスカッションされたいということでございます。

9 ページ 10 行目「2. 毒性」でございます。

カルミンを被験物質とした毒性試験成績として、以下のような報告がある。なお、カルミンと同じ原料を用いて製造されるコチニール抽出物又はコチニール色素及びカルミンの主たる染色素であるカルミン酸を被験物質とした試験成績についても参照することとした、ということでございます。

全体的に、評価書案を整理させていただくに当たりまして、カルミンのほかにコチニール抽出物又はコチニール色素、カルミン酸についての試験成績を並べさせていただいておりますが、各項目においてカルミン以外にこれらのものも参照することが妥当か、後ほど御審議いただければと考えてございます。

それから、我が国で既に認められております「コチニール色素」、これは既存添加物扱いになってございますが、既存添加物につきましては、平成 8 年に制度ができて以降、厚生労働省は必要なものについて安全性の点検、具体的には毒性試験等を行っているところでございますが、「コチニール色素」につきましては、既に安全性について海外で評価済み、評価されているという整理になっておりまして、新たな毒性試験等は実施していないと聞いております。

では、16 行目の「(1) 遺伝毒性」でございます。

カルミン等、コチニール色素又はカルミン酸を被験物質とした遺伝毒性に関する試験成績として以下のような報告がある。

20 行目「①カルミン等」、21 行目「a. DNA 損傷を指標とする試験」、22 行目「(a) 微生物を用いる DNA 修復試験」でございます。

Kada ら (1972) の報告によれば、カルミンについての細菌を用いた DNA 修復試験 (濃度約 1 mg/mL) が実施されており、いずれの細菌株においても増殖阻止帯は認められなかった。

29 行目。藤田ら (1976) の報告によれば、カルミンについての細菌を用いた DNA 修復試験 (用量 0.02 mL) が実施されており、いずれの細菌株においても増殖阻止帯は認められなかったということでございます。

資料 1-1 の 16 ページをごらんください。4 行目からのパラグラフの一番最初で、この Rec-assay のことについて評価要請者が述べておりますが、増殖阻止帯が認められていないという状況について、「いずれも判定不能の結果が得られている」、評価要請者のほうではそのような見方をしているところでございます。

評価書案に戻りまして、9 ページの 35 行目「(b) UDS 試験」でございます。

Kornbrust & Barfknecht (1985) 年の報告によれば、雄 SD ラット肝初代培養細胞株を用いた UDS 試験を、最高濃度 0.1 mM まで観察して実施しておりまして、陰性であっ

たとされており。

また、別途雄 SD ラットに同じ被験物質を、対照群、それから投与群（500 mg/kg 体重）に単回強制経口投与し、投与 2 時間後又は 15 時間後に摘出した肝の初代培養細胞株を用いて UDS 試験——ここで「試験」がダブっておりますのは、後ほど修正させていただきたいと思っております——を実施しても陰性であったとされており。

次に 44 行目「b. 遺伝子突然変異を指標とする試験」、45 行目「(a) 微生物を用いる復帰突然変異試験」。10 ページにまいりまして、Yamaguchi (1988) の報告によれば、カルミンについての細菌 (TA 100) を用いた復帰突然変異試験 (用量 0.12 mg/plate) では、代謝活性化系存在下で対照群の 2 倍を超える復帰突然変異コロニーの増加が認められたとされており。

お手数ですが、資料 1-1 の 17 ページをごらんください。20 行目から 32 行目にかけてですが、評価要請者のほうでは、この試験につきまして、最後の 2 行にございますが、「情報が不備なことと結果の信頼性に疑問がもたれることから、本文献については添付するにとどめることとする。」という見方をしているところがございます。

評価書の 10 ページに戻りまして、6 行目「②コチニール色素」、7 行目「a. DNA 損傷を指標とする試験」、8 行目「(a) UDS 試験」でございます。

Mori ら (1988) の報告によれば、添加物「コチニール色素」についてのラット肝初代培養細胞株を用いた UDS 試験 (最高濃度 0.1 mg/mL) が実施されておりまして、不定期 DNA 合成の誘発は認められなかったとされており。

14 行目「b. 遺伝子突然変異を指標とする試験」、15 行目「(a) 微生物を用いる復帰突然変異試験」でございます。

Ishidate ら (1984) の報告によれば、添加物「コチニール色素」についての細菌を用いた復帰突然変異試験 (最高用量 20.0 mg/plate) では、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であったとされており。

22 行目。Arimoto-Kobayashi ら (2005) の報告によりますと、添加物「コチニール色素」についての細菌を用いた復帰突然変異試験 (用量 10 mg/mL) では、代謝活性化系の有無にかかわらず、対照群の 2 倍を超える復帰突然変異コロニーの増加は認められていない。また、添加物「コチニール色素」について UVA を 4 時間照射した上で細菌を用いた復帰突然変異試験 (最高用量 10 mg/mL) を実施したところ、代謝活性化系非存在下の TA98 の復帰突然変異コロニーが非照射時よりも増加したが、UVA 照射量との相関性は認められないことから、当該増加について Arimoto-Kobayashi らはアーチファクトであると考察している。

34 行目「c. 染色体異常を指標とする試験」、35 行目「(a) ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験」でございます。

添加物「コチニール色素」についての CHL/IU を用いた染色体異常試験 (代謝活性化系非存在下での 24 時間及び 48 時間連続処理) (最高濃度 12.0 mg/mL) まで実施されて

おりまして、数的異常誘発性については陰性であったが、構造異常誘発性については 24 時間及び 48 時間連続処理ともに最高濃度でのみ陽性、24 時間連続処理の 6.0 mg/mL 群で擬陽性であったとされております。

44 行目「(b) げっ歯類を用いる小核試験」。石館ら (1987) の報告によれば、ICR マウス (各群雄 6 匹) に添加物「コチニール色素」を、対照群と、投与群 2,000 mg/kg 体重でございますが単回腹腔内投与、又は添加物「コチニール色素」、対照群と、投与群 500 mg/kg 体重を 24 時間ごとに 4 回腹腔内投与する *in vivo* 骨髄小核試験が実施されており、陰性であったとされております。

6 行目「③カルミン酸」、7 行目「a. DNA 損傷を指標とする試験」、「(a) 微生物を用いる DNA 修復試験」でございます。Haveland-Smith & Combes (1980) の報告によれば、カルミン酸についての細菌を用いた DNA 修復試験 (濃度 10%(v/v)) が実施されておりまして、DNA 修復の誘発はみられなかったとされております。

15 行目「(b) UDS 試験」。Mori ら (1988) の報告によれば、添加物「コチニール色素」から実験室で抽出・精製されたカルミン酸についてのラット肝初代培養細胞株を用いた UDS 試験 (最高濃度 0.1 mM) が実施されており、陰性であったとされております。

21 行目「(c) SCE 試験」。Loprieno ら (1992) の報告によれば、カルミン酸についての CHO を用いた SCE 試験 (最高濃度 0.2000 mg/mL) が実施されており、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であったとされております。

28 行目「(d) 酵母を用いた交叉誘発性試験」。Barale ら (1978) の報告によれば、カルミン酸についての酵母を用いた交叉誘発性試験 (最高濃度 100 mM) が実施されており、pH が 4.4、5.4、6.4 及び 7.4 のいずれにおいても、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であったとされております。

36 行目「b. 遺伝子突然変異を指標とする試験」、37 行目「(a) 微生物を用いる復帰突然変異試験」。Brown & Brown (1976) の報告によれば、カルミン酸についての細菌を用いた復帰突然変異試験が実施されており、代謝活性化系存在下で陰性であったとされております。また、Brown ら (1977) は、カルミン酸についての細菌を用いた復帰突然変異試験を実施しており、ラット盲腸内細菌叢抽出物の存在下で陰性であったとしております。

12 ページにまいります。

Barale ら (1978) の報告によれば、カルミン酸についての細菌を用いた復帰突然変異試験 (最高用量 0.5 mg/plate) が実施されており、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であったとされております。

Haveland-Smith & Combes (1980) の報告によれば、カルミン酸についての細菌を用いたフラクチュエーション法による復帰突然変異試験 (濃度 10%(v/v)) が実施されており、代謝活性化系の有無にかかわらず突然変異の誘発は検出されなかったとされております。

Loprieno ら (1992) の報告によれば、カルミン酸についての細菌を用いた復帰突然変異試験 (最高用量 2 mg/plate) が実施されており、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であったとされております。

23 行目「(b) その他の遺伝子突然変異試験」。Barale ら (1978) の報告によれば、カルミン酸についての酵母を用いた前進突然変異試験 (最高濃度 100 mM) が実施されており、pH が 4.4、5.4、6.4 及び 7.4 のいずれにおいても、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であったとされております。また、同じ被験物質 (1,000 mg/kg 体重) を交雑マウスに単回強制経口投与し、その腹腔内を経由したものについての酵母を用いた宿主経路前進突然変異試験が実施されており、陰性であったとされております。

34 行目「c. 染色体異常を指標とする試験」、35 行目「(a) ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験」でございます。Loprieno ら (1992) の報告によれば、カルミン酸、これは Davide Campari 社提供品 (純度 87.50%) と、Aldrich 社製品 (純度 53.13%) についての CHO を用いた染色体異常試験 (最高濃度 0.2000 mg/mL) (代謝活性化系存在下での 12 時間及び 24 時間連続処理並びに代謝活性化系非存在下での 24 時間連続処理) が行われております。その結果、Davide Campari 社提供品については、いずれの濃度群でも染色体異常の誘発は認められず陰性であったとされております。Aldrich 社製品については、代謝活性化系存在下 24 時間連続処理した最低濃度群 (0.0200 mg/mL) で染色体異常の増加がみられたが、再現性が得られなかったことから陰性と判定されております。

13 ページ、4 行目。Loprieno ら (1992) の報告によれば、CD-1 マウス (各群雌雄各 5 匹) にカルミン酸 (最高 5,000 mg/kg 体重/日) を単回経口投与し、投与 24 時間後又は 48 時間後に採取した骨髓細胞を観察する *in vivo* 骨髓小核試験が実施されております。その結果、いずれの投与群でも小核多染性赤血球の増加は認められなかったとされております。なお、用量に関連した正染性赤血球の多染性赤血球に対する比の増加傾向がみられたことについて、Loprieno らは、カルミン酸の骨髓赤血球産生細胞に対する毒性が示唆されたと考察しているところでございます。

御手持の参考 1-1 という 1 枚紙をごらんください。読み上げますが、担当の先生からは、「カルミンと同じ原料を用いて製造されるため参照されているコチニール色素及びカルミン酸については、ガイドラインで規定されている標準的な試験を含め多くの遺伝毒性試験が実施されており、結果は全て陰性であった。コチニール色素については、ほ乳類を用いる染色体異常試験において最高用量でのみ構造異常誘発性の誘発 (ママ) が認められているが、試験の限界用量である 10 mM を遙かに超えた用量であり、意味のある異常とは認められない。さらに、同一の指標を検討する *in vivo* 小核試験においても陰性の結果であったことから、陰性と考えべきものである。一方、カルミンに関する試験は少なく、*in vitro*、*in vivo* で DNA 損傷性を検討する試験と細菌を用いる復帰突然変異試験 (TA100 のみを使用) が行われている。前者に関しては全て陰性であり、DNA との直接的な反応はないものと考えられる。ただし、TA100 株を用いた試験においてはかなり強

い陽性結果が報告されている。試験の構成、用量等も不明であり、評価対象になるか否かが問題となる。ただし、比活性が約 4,600 rev/mg と高い値であることを考慮すれば、カルミンについて標準的な Ames 試験結果の再提出を持って評価を行うべきものと考えられる。」とおまとめいただいているところでございます。

○今井田座長 大変長いものなので、ここら辺で一度切ります。

前回に引き続いて大変大物といいますか、長文の評価がつくのですが、とりあえず、今までのところで評価に入りたいと思います。

最初に、I. 概要に関して、久保田先生からコメントをお願いします。

○久保田専門委員 概要は先ほど御説明のあったとおりで、表 1、表 2 も非常に長い文献の中からこのようにきちっとまとめていただいて、この部分がちゃんと書かれていることは確認しておりますので、これでよろしいのではないかと思います。

○今井田座長 委員の先生方、何かございますか。これは非常にわかりにくいといえますか、カルミン酸とカルミンを区別する必要がありますし、その定義に関しても JECFA、アメリカ、EU でも微妙に違うようなことがあります。

表 2 に関しては、我が国ではどうかということが書かれておりまして、コチニール抽出物を我が国では「コチニール色素」と呼んでいるということですが、表 1 には、我が国の考えが入っていませんが、それを入れなくてよろしいのですか。

○久保田専門委員 それはこれから…。

○今井田座長 …やるわけですね。

○久保田専門委員 これは既存の、他のところではこのように決められているということで、これを参考に。表 2 の「コチニール色素」は既に我が国で認められているものでして、「カルミン」については、今後このようにまとまるものではないかと思います。

○今井田座長 それと、前に他のもので構造式を入れるか入れないか議論になったことがあるのですが、今回の評価書で構造式をどうするかについてはいかがですか。

○久保田専門委員 これは抽出物になりますので、いろいろなものが含まれているということで、その主なものは、先ほどお示しいただいたものだと思いますが、たん白質についてもいろいろあるものですから、多分かかないほうがいいのではないかと思います。

○今井田座長 他の委員の先生方、よろしいですか。

表 2 の「コチニール抽出物」あるいは「コチニール色素」の成分というところで、欄外に「\*」がありまして、「カルミン酸含量として 6.8%、約 5.7%相当とされている」とあります。だからこれは、カルミン酸としてはかなり低い値ですよ。

○久保田専門委員 しかし、表 2 の米国や何かに比べたら高いかもしれない。

この計算の仕方は資料 1-1 の 11 ページに詳しく書かれておりまして、私も専門家ではないのでわかりませんが、抽出物を 10%濃度にして測ったときにこのようになるという計算式が…。分子吸光係数  $\epsilon=5,800$  というのが 1 mol/L のときの吸光度として決まっています、それから求めているものようでして、そのようになっておりますが。いかがで

しょうか、もう少し説明が必要でしたら教えていただかないと。

○今井田座長 カルミン酸として考える場合に、6.8%ととるか 5.7%ととるのが後々出てこないかなと思うのですが、その点どうですか。計算によって違うというか、やり方によって違うということですよ。

○久保田専門委員 そこまで私も検討しませんでした、文献によって違うのですよね、5.7%相当と。どうしましょう。

○今井田座長 要するに、我々が安全側に立つとすると、より低いほうの割合を考えれば安全側に沿った考え方ができるかと思うのですが、そういう扱いでよろしいのですかね。

○久保田専門委員 申しわけありません、ちょっとおっしゃっている意味がわかりません。低いほうが…。

○今井田座長 要するに、コチニール抽出物あるいはコチニール色素の中で、カルミン酸としては 6.8%か、あるいは 5.7%か計算によって違うわけですよ。それで、我々はどちら側の値をカルミン酸として考えたほうがいいのかとなると、ということなのですが。

この議論はまた後からやればよろしいですかね。

○角井課長補佐 確かにこのように 2 つに分かれているのですが、久保田先生から御紹介ありましたとおり、6.8%というのが評価要請者たる厚生労働省の名のもとに出てきている数字でございますので、どちらかという、フォーマルなのは 6.8%のほうかと思えます。5.7%は、「コチニール色素」をつくっているメーカーの方が書かれた文献に、このように算出されると。その過程は何も書いていなくて「5.7%ですよ」と言っているだけでございまして、信頼性という意味からすれば、6.8%をとるほうがよろしいのではないかと。ただ、安全性という観点からしますと少ないほうが、という見方もあるかもしれませんが、それはまた後ほど、個々の毒性試験なりを検証される際に御議論いただければと思います、いかがでしょうか。

○今井田座長 では、そのようにさせていただきます。

○中江専門委員 今のはよくわからない。ここに書いてあるのは、色価 80 というのが 6.8%あるいは 5.7%に相当するという意味でしょうか。それと安全性との間には、どういう関係があるのですか。

○角井課長補佐 例えば、コチニール色素、コチニール抽出物の毒性試験で、ある用量で毒性が見えているときに、それを仮にカルミン酸として換算するとすれば、より少ないカルミン酸で毒性が出ているとすれば、「カルミン酸が少なくてもこれだけの毒性が出ます」といった話につながり得るので、そういう意味で「安全側」という言葉を使わせていただきました。

○今井田座長 後でまた出てくるかもしれませんが、そこで検討したいと思います。

○山添専門委員 資料 1-2、評価書案の 7 ページの表 2 で、ここではアルミニウムの記載が一切ないのですが、前のほうで、カルミン、カルミン酸はアルミニウムのキレートになっていますよね。そのアルミニウムについての記述は全くなしでいいのですか。

○角井課長補佐 コチニール抽出物またはコチニール色素の場合には、アルミが入っているという規定にはなってございません。規格上の決めとしてですね。カルミンについてはアルミないしはカルシウムアルミのレーキであるという規定になっておりますが、言ってみればそこが一つの違いなのかなとは思ってございます。別の添加物になっておりますので。

○山添専門委員 別の添加物というのはいいのですが、実際にはアルミも入っているのですか。

○角井課長補佐 規格上は、特にアルミニウムについて「何%以上入っていなければいけない」という規定はございません。実態としてどうなのかは、ちょっとわかりませんが。

○山添専門委員 安全性の問題で、別にアルミニウムですぐにアルツハイマーを言うわけではありませんが、レーキになっていてキレートしているものの含量で、要するに、色素量とほとんど 1 対 2 のモル比であるならそれでいいのですが、そこは規格上、今のところは何もなっていないということですね。

○角井課長補佐 はい。

○今井田座長 それでは「Ⅰ. 概要」は終わってよろしいでしょうか。

では、8 ページ「Ⅱ. 安全性に係る知見の概要」「1. 体内動態」に入ります。ここでは代謝のところ「まとめは後から」ということでしたが、コメントいただけませんかでしょうか。

○山添専門委員 この物質については、直接的に体内動態のデータは見つかりませんでした。基本的には吸収されないということをもって腸管運動のマーカーみたいに使われていて、そういう使われ方をしている、基本的に大部分のものが吸収されず、そのままゆっくると腸管を通して糞中に出ていくという論文があったくらいです。ただし、ここにも書かれていますように、大量投与されたものについて尿の着色がみられると記載されています。このことをどう見るかということで、ごくわずかな量ではあるが腸管から取り込まれて、それが尿に移行したと判断する考え方が 1 つ。もう一つは、動物実験でのデータですので、糞中に出たものが結果的に体毛等を汚すのと同じように、尿を汚して着色している可能性もある、それが 2 つ目の可能性です。当然ここでは、吸収されたものとして考えた場合、ごくわずかとして吸収される可能性を考える必要があるかと思いますが、ただ、物性として糖鎖を含んでいた anthraquinone ですので、しかも糖鎖が外れる構造ではありませんので、わずかに入ったとしても速やかに排泄される可能性は高いと思っています。

ただし、その証拠がないのですね。ですから、尿中に未変化体のまま出ているのか、あるいは抱合体になって出ているのかといったこと、あるいは *in vitro* で他の構造に変換されるような、きっとフェノール性の機能を持っていますので、グルクロン酸抱合あるいは硫酸抱合になる可能性は十分にあると思いますが、そういうものになっているという証拠があれば、動態面から見て安全性上の懸念はそれほどないかと思っています。

○今井田座長 どういたしましょう。ある程度、確認をしておいたほうがいいのではない

かという先生の御意見ですよね。

○山添専門委員 はい。1 つは、本当に吸収されたものとして尿中に出ているのか。高い用量ではありますが、そのときのデータが。そして、それがどういう形で出ているのかということですね。それが確認できることが一番望ましいかと思います。

○今井田座長 今の御意見に何かコメントございますか。

今まで出ているデータだけだと、尿中に着色したというデータはありますが、それが本当に尿のほうから出てきたものなのか、あるいは糞便中に出たものが尿についた可能性も考えられる。ただ、そこら辺の確証が得られないということですね。

○山添専門委員 なぜこんなことを言うかということ、多分、後でアレルギーの議論がありますよね。アレルギーの場合、濃度に依存しないで出る人は出る可能性がありますよね。ですから体内に入ることは、もし量的に低い、パーセンテージとして低くても、本当に取り込まれるのであればそのところで少し考慮する、そこのリンクの問題があります。

○中江専門委員 関係するかどうかよくわかりませんが、14 ページの 8~9 行目ぐらいですか、Battelle たちの報告において、5,000 mg/kg 体重/日以上で組織に色素沈着が認められています。それで今、確認したのですが、この「色素沈着」の意味がよくわからないのです。「accumulation of color in the tissue of rats」という書き方なので、これはもともとが色素ですから、そういう意味で書いているのだとしたら、この「color」というのはこの色素ですし、例えばヘモジデリンみたいなものがたまっていることを言っているのだとしたら、全く関係ないことなので、そこがこの文面だけではわからないのですが、ひょっとしたら、ちょっと関係するのかもしれない。ちなみに、同じ Battelle たちの報告には尿にも出ていると書いてあります。

○山添専門委員 恐らくこれは、色素として使うくらいだから非常に強いのですよね。ごくわずか入っても多分、赤色が出ていて、もちろん 0.1%以下しか吸収されないのだと思いますが、ごくわずか入ることがあるのか、それが高い用量でのみ観察される現象なのか、その辺ですよね。添加物として使う量で問題がなければ、それで吸収されなければそれでいいのですが、その辺がちょっと悩ましいところかと思います。

○今井田座長 これはもし追加のデータというか、実験を要求するとしたら、具体的にどのような形の要求になりますかね。

○山添専門委員 ここは添加物として使う量ですよね。だから、そんな高い濃度までを要求するかどうかは 1 点。そうすると、多分吸収されているというか、色素が出ているから物質は間違いないと出てしまうと思うのですが、では、どの辺までの濃度で実際検出できなかったか。多分、尿中に出てくると思うのですが、尿中に出てこなかったのか、出てくるのか、ある濃度の範囲以下で。全然出てこなければ吸収されていないと見ていいと思うのですが、少なくともある濃度レンジのところでは尿中に、色ですから、どう測るかは他の方法でも、MS でも何でも測れると思いますが、ある程度高感度に測ってもらって、出てこなければいいと思うのですね。

○今井田座長 山添先生が懸念されるように、アレルギー性に関する問題点もありますので、一応今言われた点、ある程度リーブナブルな濃度の中でラットなりに投与した場合に、尿中にその色素が検出されるかどうか確認してはどうかということでございます。

○三森専門委員 色が出てきているというのは、カルミン酸自身のごく微量なものが入って行って色がついたと思います。後で問題になってくるアレルギー性との関連から考えますと、むしろカルミン酸ではなく、虫から抽出された構成たん白のほうが、異種たん白ということでアレルギーを誘発していると私は考えていたので、色とは直接関係ないのではないかと思います。

こういう色素類の場合は、かなり低い用量でも摂取すれば必ず臓器に沈着してきますので、そこまで代謝のほうで見てコメントが必要かなと思うのですが。問題になるのは、私はたん白質のほうだと思います。

○山添専門委員 私も最初はそう思って、「いいのではないかと」言おうとっていて角井さんと相談したのですが、実は、この物質側が原因とするという報告があるのだそうです。だから、私もたん白側だからいいのではないかと考えていたら、そうはいかないということで、だったらやはり見なくてはいけないかなと。

○三森専門委員 抗原性があるのですか、この構造式から。

○山添専門委員 これは **anthraquinone** ですので、構造を考えると、酸化反応するとたん白と反応しないとは言えない **quinoid** をとる。そこが悩ましいところで。糖鎖はついて、水溶性は高いし、外れないから極性は高いし、ほとんど吸収されないはずですが、伊藤先生よく御存じかもわかりませんが、**transcellular route**、細胞の間隙を通してポリオールが入ることありますよね。そのように、量的な問題でなくてわずかに入る可能性は、考えてみると、ゼロではないのかなと。そうすると、ややこしいなという判断です。

○今井田座長 他の先生方、いかがでしょうか。

○三森専門委員 その辺の不明確なところがあるのであれば、やはりある程度のデータの要求は必要かと思います。

○角井課長補佐 御参考までに、具体的にどの試験かはちょっと失念したのですが、**JECFA** の評価で、評価書案 39 ページから 40 ページにかけて、具体的には 40 ページの 1 行目から「証拠の重みを踏まえると当該アレルギー反応の原因はコチニール着色料中のたん白質であると推定されるが、当該たん白質の構造及びアレルギー反応におけるたん白結合カルミン酸の役割については不明であるとされた。」とあります。今のお話にあった **unclear** な部分の 1 つとして、**JECFA** でもこのような議論がなされているということかと思います。御参考までに、情報でございます。

○今井田座長 **JECFA** でもその話が出ているということですが、代謝のところでは、先ほど言いましたような形で、少し確認しておいたほうがいいということにしたいと思います。よろしいでしょうか。

(「はい」と声あり)

○今井田座長 ありがとうございます。

この代謝のところ、体内動態のところでもその他、何か御意見ございますか。

○久保田専門委員 先ほどの山添先生からの、コチニールとカルミン酸の違いですが、資料 1-1 の 8 ページに製造方法が書いてありまして、結局、コチニール色素というのは水などの抽出物なのですが、そこからアルミニウムとかミョウバン等を使って精製したものがカルミンということで、コチニールのほうにはアルミニウム等はほとんど入っていないのかなと思われそうですが。8 ページに「(5) 製造方法」とございまして、コチニールの抽出物を得て、そこから精製するときにミョウバンとかそういうものを使って、初めてここでキレートができて、それがカルミンだという製造方法になっているので、その違いではないかと思うのですが、いかがでしょうか。

○山添専門委員 結構だと思います。恐らくそうだと思うのですが、規格上に実際本当に入っていないのか。それと、アルミニウムの摂取の問題ですよね。それだけが安全性で気になります。

○今井田座長 その他、よろしいでしょうか。

それでは次に、9 ページの 10 行目「2. 毒性」のところに入ります。

遺伝毒性、それから毒性も含めて、ここで議論しておいたほうがいいと思うのは、これはカルミンの評価をしているわけですが、同じ原料を用いて製造されるものとしてコチニール抽出物あるいはコチニール色素、それとカルミン酸というものがあって、それぞれデータが出ております。特に遺伝毒性に関して言うと、カルミン酸、コチニール色素あるいはコチニール抽出物を用いた試験結果をどのように考えるか、という点について御意見をいただければと思います。

山田先生、ちょっとコメントいただければと思いますが。

○山田専門委員 今回、9 ページの 20 行目からカルミン等の報告のまとめが記載されていまして、コチニール色素については 10 ページの 6 行目からなのですが、いずれも 1 ページ足らずの量で、余りデータがないのですね。カルミン酸が一番たくさんありまして、11 ページの 6 行目から 13 ページまで 2 ページくらいにわたってデータがあります。

カルミン酸は、先ほど事務局に読み上げていただきました資料にも書いてありましたように、各種試験が行われています。ガイドラインに沿ったような標準的な試験もありまして、結果はすべて陰性となっています。

この全体いろいろな試験がある中で、陽性、擬陽性という報告が 2 つありまして、1 つは、10 ページの一番上にある Ames 試験の菌株を用いたカルミン等の試験結果で、もう一つは、コチニール色素についてはほ乳類細胞を用いる染色体異常試験で、擬陽性と出ています。

先ほどの説明にもありましたように、染色体異常試験については濃度が非常に高いもので、10mM を超えていますし、その濃度だけで陽性に出ていますので、これは特に意味のある異常とは認められないということだと思います。

だから最終的に気になりますのが、カルミンを用いて実験された 10 ページの一番上の 1988 年の報告で、TA100 しか使っていないのですが、TA100 で陽性に出ているという結果です。具体的には「対照群の 2 倍を超える」とありますが、実際は、対照群が 120 個のコロニーで、用量 0.12 mg/plate で対照群を差し引いた数が 590…600 くらいのコロニーです。それだけの数字で比活性値が計算できますので、それを計算しますと、4,600 rev/mg という値になりまして、これは非常に強い変異原性物質であると判断できる数字です。試験としては不十分なのですが、この数字はちょっと無視できないと考えます。

したがって、Ames 試験結果だけでいいので、標準的な試験を実施した結果の再提出が必要ではないかというのが私の意見です。

○三森専門委員 ということは、何が違うかということ、カルミンはアルミニウムとのキレート結合物で、カルミン酸とコチニール色素はアルミニウムがついていないものですよね。ですから、アルミニウムがついたことによって TA100 が陽性になった可能性があるということでしょうか。

○山田専門委員 それはちょっとわかりません。

○三森専門委員 データからいくと、エンジムシから抽出したものがコチニールですよね。その主要色素がカルミン酸であって、それにアルミニウムを結合させたのがカルミンですよね。遺伝毒性試験のデータを見ていくと、カルミンだけにこういうデータが出ていて、カルミン酸もコチニールにもないわけです。すなわち陰性結果が出ているわけですから。何が違うかといったら、そこを考えざるを得ないのですが。あるいは、TA100 の試験をもう一回しなければいけないというのは、再現性の面で問題があるということですか。

○山田専門委員 それもありますし、試験自体が不十分で、これ、実際はカルミンについて調べた論文ではなくて、10 種類以上の物質の中にたまたまカルミンが入っているという試験なのですね。ですから、カルミンの遺伝毒性を調べた論文の結果ではないということも 1 つ気になるころではあります。あと、カルミンとカルミン酸、コチニール色素との違いはアルミニウムだけではないはずで、不純物があるものですから、不純物の構成も、多分カルミンとコチニール色素やカルミン酸でも違うと思いますので。実際この文献で使ったカルミンと再試験するときのカルミンは同じものではないかもしれないという問題もありますが、あまりにデータがありませんので、Ames 試験だけでも標準的な方法でやって、その結果を見てから判断すればいいのではないかと考えます。

○三森専門委員 事務局にお伺いしますが、カルミンからたん白を抜くことはできるのですか。

○角井課長補佐 後ほど出てきますが、たん白を除いた高度精製品で試験を行ったという報告もあります。ただ、それも 100%たん白を除いたとは書いてありませんが、恐らくかなり低減したと。実生産ベースでの工程を頭に入れて、多分、可能な限り減らしたといったことで、それでアレルギー性がどう変わるかという評価をした報告がございます。ですから、今の実態のレベルよりも、よりたん白を低減するという可能性はゼロではないのか

など思っています。

○三森専門委員 後ほどのアレルギー性のところでの評価にもかかわってきますが、これは、同じ土俵で相撲をとることができないような感じがします。何が原因でカルミンだけが陽性になったのか、そこがわからないですね。

○今井田座長 そうですね。同じ実験系で、カルミンとカルミン酸とコチニール色素の濃度を合わせて実験してみて、その結果で、先ほど三森先生が懸念されたようなことが言えるのかもしれませんが、そういうデータではないですね。だから判定は難しいか、と思います。

林先生、コメントをお願いできますか。

○林専門委員 その前に、山添先生にお聞きしたいのですが、カルミンというのは、このまま体内に入ったらどんな形で存在することになるのですか。このまま壊れないで、アルミニウムが真ん中に挟まったような状態のままということはないですね。

○山添専門委員 もしもアルミニウムキレートしていたら、通常の状態ではほとんど吸収されない。だから胃酸でキレートが分解するか、どの程度安定かどうかによるのです。ただ、赤い色をしたまま腸管を下っていくとされていますので、ある程度は安定性がある、この形をとっている可能性が大きいですね。だから、酸にもある程度安定なので、カルミンでもほとんど吸収されないと思うのですね。

わずかなものが、通常の「吸収」と言われる過程ではなくて、異物を取り込むような過程で *phagocytosis* みたいな形でパクッと捉えてしまうことは否定できないかもしれませんが、通常は入らないと思います。

それから、先ほどからコチニールの *extract* とカルミン酸、カルミンの違いが議論されていますが、資料に 5,800 でしたか、分子吸光係数が出ていましたよね。あれ、波長が記載されていないのですよね。あえて出していないのか。アルミニウムキレートになったときとそうでないときと波長が変わるはずですね、実際に吸収の極大が。Cochineal *extract* だとすれば、アルミニウムがないときの *quinone* の吸収極大を測っている可能性がありますよね。ところが、あの構造から見ると、アルミニウムがない、キレートしていないときは多分黄色だと思うのですよ。スッと頭の中で計算するとそんなに波長がいかない、赤までいかないと思うのですよ。金属がないと赤にならないので。

そうすると、どちらで測っているかも書いていないのですが、分子吸光係数としては黄色の色も測れるのですよね。ですから黄色というか、若干オレンジがあったところで測っているのか、赤で測るのだったらキレートなので、そこもこれ、実はどちらを意味しているのかなかなか判定がつかないのですよね。

○久保田専門委員 資料 1-1 の 9 ページ、カルミンの「定量法」のところに「494 nm」と書いてございますが。

○山添専門委員 そうか、ここで 494 nm になっているわけですね。そうすると、これはカルミン酸で、そうすると、これはアルカリ側に可溶化して、アルカリで長波長側に移し

ているということですか。そうすると、全部乖離型にしているわけですね。そうか、わかりました。ごめんなさい。

そうすると、アルカリで持っている長波長側にシフトをかけているので、アルミニウムが入っているときと同じ側にずらしているわけですね。あってもなくても結局、アルカリで外して……。あ、「塩酸に溶かして、だいたい色を呈し」となっていますね。

アルカリ側で赤紫色になる、これはいいですよ。それで……

○中江専門委員 同じ資料の 10 ページに表があって、そこに色も書いてあります。この表だと、アルミニウムがあろうがなかろうが赤いみたいですね。

○林専門委員 もし本当に体内に吸収されないのであれば、毒性も何も考えなくていいわけですよ。今、遺伝毒性として *in vitro* で試験したときの結果を云々しているのですが、さっき山田委員がおっしゃったように、これは Ames 試験としてはかなり強い部類に分類されてしまうので、それはやはり一応確認しておいたほうがいいのかと思います。

アルミニウムについて、キレートになったからといってそんなに遺伝毒性が変わるものではないと思いますが、そういうデータが出てしまっているの、それをもう一度正当に評価する意味でも、試験をやっておくほうがいいのかというのが私の意見です。

○山添専門委員 これは TA100 で出ていますよね。だから、逆に言うと活性酸素かなど。つまり、quinoid から出てきて酸化されて。林先生、その可能性はありませんか。

○林専門委員 それだと、他のものでも出てもいいのではないですか。

○山添専門委員 でも、カルミン酸などは出ていない。

○林専門委員 他で出なくて、カルミンだけで出ているところは。

○今井田座長 体内に吸収されるかどうかはわからないという前提で、とりあえず吸収されるかもしれないという仮定で話を進めたほうがいいのかと思うのですが、となるとこの遺伝毒性のところも。これは Ames 試験だけでいいのですかね。遺伝毒性としてのデータが必要ではないでしょうか？

○山添専門委員 ほとんど吸収されないと思いますよ。多分 Ames で出たとしても、事実上は吸収されないと思うのです。そっちに関しては。だから、遺伝毒性はほとんど起きないだろうと思います。

入ったとしても、私はそのまま尿中に出ていってもいいと思うし、何らかの抱合型があればと…。出ていくだろうと思うのですが、ただ、さっきも言ったようにアレルギー性のものが、この構造に由来するものがあるのであれば、それはゼロではない、可能性は否定できない。だから、多分 DNA に届くまでの間には十分処理されるので、遺伝毒性は多分おきないのではないかと思います、ということです。

○三森専門委員 先ほど事務局にカルミンの構成成分のうちたん白質を除去することができるかと聞いたのは、そこもあるのですよ。カルミン酸ではなくて、不純物というのでしょうか、impurity のたん白質のほうに遺伝毒性という可能性も考えなければいけないのではないかと思います。アルミニウムでキレート結合して入らないということであっ

て、*in vitro* から *in vivo* に持っていったら陰性になるかもしれませんが、不純物としてのたん白量が 25%も入っているわけですから、これが何かいたずらしているのだったら結局わからないですよ。アルミニウムは関係ないということであって、たん白質の何らかの成分がいたずらをしているのかということを押さえることが、もしカルミンからたん白含量のところを抜くことができれば、そこで評価できるかと思うのですが。

○林専門委員 たん白で Ames が陽性になってくるというのは、ちょっと考えづらいところもあるし、もちろん、それが分解してヒスチジンが単離しておれば、それが **pseudopositive** というのは当然あり得るのですが、先ほど来言っているように、山添先生もおっしゃいましたが、全体を見たら、遺伝毒性としてはまず問題ないと思うのですよ。問題はないと思いますが、たまたま 1 つあるデータが、これは化審法だったら、昔だったらこれだけで黒判定になるぐらいの強さなのです。それぐらいの強いデータが出てしまっているので、それはやはりきちっと **delete** するなら **delete** しておく必要はあるのかなど、山田さんとも話をしていたところです。

○今井田座長 やはり少し押さえたほうが良いと私も思いますが、要求するとしたらどういう形で要求するか。例えば、*vivo* の遺伝毒性のデータを含めて小核等まで求めるのか、Ames だけでいいのか、Ames、染色体、小核と要求するのか、林先生、その点はいかがですか。

○林専門委員 Ames 試験だけでいいのではないかと思います。それも一応 GLP で、標準的なガイドラインに従った試験ということで、今あるデータときちっと差別化したデータが提出されるのが一番望ましいと考えます。

○山田専門委員 私も Ames 試験だけでいいのではないかと思います。もしできるのであれば、使う検体についてのヒスチジンの濃度は調べてもらいたいかなと思ったりはするのですが。ヒスチジンが入っていると **pseudopositive** が出ますので、それでどれぐらい影響があるかはわかりませんが、一応たん白の含量が高いということから、ヒスチジンが含まれていてもおかしくないと思います。この 1988 年の論文はそういうことを考慮せずに試験を実施しているはずですので、ヒスチジンの含量を測定していただくということが補足のデータとしてあれば望ましいと思います。

○今井田座長 遺伝毒性に関してですが、今、山田先生が言われたような形で追加で要求しようかと思います。それでよろしいでしょうか。事務局もいいですか。

○角井課長補佐 すみません、ヒスチジンということですが、トリプトファンもですか。

○山田専門委員 標準的な試験をすれば WP2 の株がありますので、トリプトファンとヒスチジンということになると思います。

○中江専門委員 逆に言うと、TA98 か別の株で今まで出ていないのなら、そこでもバックグラウンドが上がりますよね。

○林専門委員 文献を見てもよくわからないのですが、多分、TA100 しかやっていないと思います。もう一株でも他のものがやってあれば、その辺の判断もできると思いますが、

何分一つだけなので、ちょっと判断がつかない。

○今井田座長 それでは、遺伝毒性のところは追加資料を要求する、という形で、今日はひとまずやめておきまして、次に移りましょう。

事務局から説明をお願いします。

○角井課長補佐 資料 1-2 の 13 ページをお願いします。

14 行目「(2) 急性毒性」でございます。カルミンを被験物質とした急性毒性に関する試験成績を確認することはできなかった。コチニール色素を被験物質とした急性毒性に関する試験成績として以下のような報告がある。

19 行目。中川ら (1968) の報告によれば、体重 18~22 g の dd マウス (各群雄 12 匹) にカルミン酸アルミニウム (50,000、75,000 mg/kg 体重) を単回強制経口投与し、1 週間観察する試験が実施されている。その結果、斃死は 75,000 mg/kg 体重投与群で 2 匹にみられたのみであったとされている。中川らは、本試験における経口 LD<sub>50</sub> について、75,000 mg/kg 体重を超えており算出することができないとしている。

26 行目。吉積 (1979) の引用によれば、試験条件等は不詳であるが、大阪市立衛生研究所による試験結果として「コチニール及びカルミン酸」についてのマウス経口 LD<sub>50</sub> は 8,890 mg/kg 体重とされている。

30 行目。野田ら (1984) の報告によれば、5 週齢の Wistar ラット (各群雄 10 匹) に 2 種類の添加物「コチニール色素」を単回強制経口投与し、7 日間観察する試験が実施されている。その結果、いずれの被験物質についても、一般状態については特記すべき異常は認められず、体重については対照群と投与群との間に差は認められなかったとされている。死亡例もなかったことから、野田らは、本試験における LD<sub>50</sub> を 11.25 mL/kg 体重以上としている。続けてよろしいでしょうか。

○今井田座長 お願いします。

○角井課長補佐 40 行目「(3) 反復投与毒性」。

カルミン等及びコチニール色素を被験物質とした反復投与毒性に関する試験成績として以下のような報告がある。

44 行目「①カルミン等についての短期毒性試験」、45 行目「a. Battelle (1962) のラット 13 週間試験」。14 ページにまいりまして、Battelle (1962) は、ラット (各群雌雄各 20 匹) にアンモニアを含むコチニールカルミン (最高 10,000 mg/kg 体重/日) を 13 週間反復強制経口投与する試験を実施している。その結果、被験物質の投与期間中に投与群の尿及び糞便の着色がみられたとしている。体重については、5,000 mg/kg 体重/日以上以上の投与群で明らかな増加抑制が認められたとしている。剖検及び病理組織学的検査においては、5,000 mg/kg 体重/日以上以上の投与群の組織・器官に色素沈着が認められたほか、特段の所見は認められなかったとしている。そのほか、血液学的検査においては、被験物質の投与に関連した影響は認められなかったとしている。担当の先生には「本専門調査会としては、5,000 mg/kg 体重/日以上以上の投与群での体重増加抑制を投与に関連した変化と

考え、本試験における NOAEL を 2,500 mg/kg 体重/日と評価した。」とおまとめいただいております。

15 行目「b. FDRL (1962) のラット 90 日試験」。

FDRL (1962) は、離乳ラット（各群雌雄各 25 匹）にカルシウムカルミン（最高 500 mg/kg 体重/日）を 90 日間混餌投与する試験を実施している。その結果、一般状態、体重、血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査において被験物質の投与に関連した影響は認められず、剖検及び病理組織学的検査において注目すべき所見はなかったとしている。担当の先生方には「本専門調査会としては、FDRL の評価を妥当と考え、本試験における NOAEL を、本試験の最高用量である 500 mg/kg 体重/日と評価した。」とおまとめいただいております。

上の「a.」の試験について補足するのを忘れてましたが、資料 1-1 の 14 ページ、17 行目から 19 行目にかけてをごらんください。

評価要請者である厚生労働省では、Battelle の 13 週間の試験、JECFA Monograph で引用されているのですが、「アンモニアで処理したカルミン」の詳細が不明であり、カルミン酸をアンモニア水中で加熱することで合成される 4-アミノカルミン酸が生成していることが否定できないと考える。」とっております。評価要請者のほうでは、この試験についての被験物質とされる ammoniacal carmine——と英語では書いてあるのですが、それについてこのような疑念があると述べているところでございます。

評価書案に戻りまして、14 ページでございます。

26 行目「c. Fulton ら (1984) のウサギ面皰形成性試験（参考）」でございます。経口投与による試験ではないので参考データです。Fulton ら (1984) の報告によれば、ニュージーランドホワイトウサギ（2 匹）の片耳内側表面にカルミンを 2 週間塗布し、刺激性、角質増殖等をみる試験が実施されている。その結果、カルミンの面皰形成性はないと結論されております。

33 行目「②カルミン等についての多世代毒性試験」、34 行目「a. Ford ら (1987) のラットを用いた二世代にわたる試験」。Ford ら (1987) の報告によれば、Wistar ラット (F<sub>0</sub>)（対照群雌雄各 114 匹、各投与群雌雄各 66 匹）にカルミン（最高 500 mg/kg 体重/日）を混餌投与し、投与開始 60 日後に各群内で雌雄を 1:1 で 12 日間交配し、得られた児動物 (F<sub>1</sub>)（対照群雌雄各 90 匹、各投与群雌雄各 54 匹）について F<sub>0</sub>と同様の投与を死亡率が 80%に達する時点（雄投与 107 週、雌投与 108 週）まで継続する試験が実施されている。その結果、死亡率、一般状態、体重、摂餌量、摂水量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査及び器官重量において——15 ページにまいりまして——被験物質の投与に関連した変化は認められなかったとされている。病理組織学的検査においては、150 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で軽度の胃炎、500 mg/kg 体重/日投与群の雄で肝類洞拡張、雌で膈炎、リンパ節水腫及び尿路結石症が認められたとされております。Ford らは、いずれも一般的な加齢性の変化であり、被験物質の投与によるものである可能性を

完全に排除することはできないものの、偶発的な変化で生物学的意義は疑わしいと考察している。また、すべての投与群の雌で乳腺の腺房過形成及び導管拡張の有意な増加がみられたが、投与群間で用量依存性はみられず、自然発生病変と考えられないような病変でもないことから、Ford らは、対照群の発生率が偶然に低かったことによるものであり、毒性的意義に乏しいと考察している。更に、被験物質の投与による腫瘍発生の増加は認められなかったとされており。以上より Ford らは、生涯のほとんどの期間にカルミンを最高 500 mg/kg 体重/日反復経口投与した本試験において有害影響は認められなかったと結論しております。担当の先生方には「本専門調査会としては、50 mg/kg 体重/日以上の投与群の雌でみられた乳腺の腺房過形成及び導管拡張、150 mg/kg 体重/日以上の投与群の雌でみられた軽度の胃炎並びに 500 mg/kg 体重/日投与群の雄でみられた肝類洞拡張について、対照群との間で発生率に大差がなく、関連する器官重量や血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査の結果に変化がないことから、Ford らの考察を妥当と考えた。しかしながら、500 mg/kg 体重/日投与群の雌でみられた膣炎、リンパ節水腫及び尿路結石症については、関連する器官重量や血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査の結果に変化がないものの、対照群に比べて発生率が 2~6 倍に増加していることから、Ford らも認めているように、被験物質の投与に関連した変化である可能性が否定できないと判断した。以上より本専門調査会としては、本試験における NOAEL を 150 mg/kg 体重/日と評価した。」とおまとめいただいております。

29 行目「b. Grant & Gaunt (1987) のラットを用いた四世代にわたる試験」でございます。Grant & Gaunt (1987) の報告によれば、第 1 段階として離乳 Wistar ラット (F<sub>0</sub>) にカルミン (最高 500 mg/kg 体重/日) を 60 日間混餌投与した後に交配して児動物 (F<sub>1a</sub>)、二腹目の (F<sub>1b</sub>) を得て、第 2 段階として、39 行目にございますが、F<sub>1a</sub> を交配して F<sub>2</sub> を得る。そして 16 ページにまいりまして、5 行目、第 3 段階として離乳後の F<sub>2</sub> の一部を交配して F<sub>3</sub> を得て、12 行目にありますように、第 4 段階として離乳後の F<sub>3</sub> の一部に 49 日間混餌投与するといった、各世代にわたって投与等を行う試験が実施されています。その結果、一般状態については、各群少数の雌に膣無開口がみられたほかは良好であったとされている。器官重量については、一部世代の様々な組織・器官で有意差が散見されたが、全般的に対照群と投与群との間で差は認められなかったとされており。剖検においては、各投与群で常に盲腸内容物及び胃の赤色化がみられたほか、被験物質の投与に関連した所見は認められなかったとされている。F<sub>3</sub> の鏡検においても、被験物質の投与に関連した影響は認められなかったとされている。以上より、Grant & Gaunt は、本試験における反復投与毒性に係る NOAEL を、本試験の最高用量である 500 mg/kg 体重/日と結論しております。担当の先生方には「本専門調査会としては、Grant & Gaunt の結論を妥当と考え、本試験における反復投与毒性に係る NOAEL を、本試験の最高用量である 500 mg/kg 体重/日と評価した。」とおまとめいただいております。

次に、28 行目「③コチニール色素についての短期毒性試験」、29 行目「a. 川崎ら

(1994) のラット 4/13 週間試験」でございます。川崎ら (1994) の報告によれば、5 週齢の Wistar ラット (各群雌雄各 15 匹) に添加物「コチニール色素」を、対照群のほか、投与群で 3.0%混餌投与し、投与 4 週に各群雌雄各 7 匹を、投与 13 週に各群雌雄各 8 匹をと殺する試験が実施されております。その結果、血液学的検査においては、3.0%投与群の雄で投与 4 週に MCH 及び MCHC の減少が認められ、3.0%投与群の雌で投与 4 週及び 13 週に血色素及び MCV の減少、投与 4 週のみヘマトクリットの減少、投与 13 週のみ MCH の減少が認められたとされている。川崎らは、いずれも変化は小さく、毒性的意義は小さいとしております。

17 ページにまいりまして、血液生化学的検査においては、3.0%投与群の雄で投与 4 週及び 13 週にカルシウム濃度の増加、投与 13 週のみリン脂質及びトリグリセリド濃度の低下が認められ、3.0%投与群の雌で投与 4 週及び 13 週にトリグリセリド濃度の低下及び  $\gamma$ -GTP 活性の増加が認められたとされている。川崎らは、トリグリセリド濃度の低下について、代謝に係る何らかの変化の可能性も考えられるとしているが、 $\gamma$ -GTP 活性の増加の原因について何も言及していない。器官重量については、3.0%投与群の雌で投与 13 週においてのみ脾臓及び副腎の絶対重量及び相対重量の減少がみられたとされている。

ここは担当の先生に御助言いただいて修正した部分でございますが、「これらについて川崎らは、結果の項でそのように報告しながら、考察の項で器官重量の変化はなかったと述べている。」としていただいたということでございます。

そのほか、一般状態、体重、摂餌量及び病理組織学的検査において、添加物「コチニール色素」の投与に関連した変化は認められなかったとされております。担当の先生方には「本専門調査会としては、3.0%投与群の雌雄にみられた諸変化のうち、少なくとも血清トリグリセリド濃度の低下及び  $\gamma$ -GTP 活性の増加について、川崎らも一部認めているように、被験物質の投与に関連した変化である可能性を否定することができないと考え、本試験における NOAEL を評価することはできないと判断した」とおまとめいただいております。

19 行目「b. 林ら (2008) のラット 90 日間試験」。林ら (2008) の報告によれば、F344 ラット (各群雌雄各 10 匹) にたん白含量を低減した添加物「コチニール色素」(最高 5.0%) を 90 日間混餌投与する試験が実施されております。その結果、投与期間中に死亡は認められなかったとされている。一般状態については、被毛及び糞便の着色がみられたとされている。病理組織学的検査においては、5.0%投与群の雌雄で腎臓髄質外帯の鉍質沈着の増加が認められたとされている。そのほか、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、器官重量及び剖検においては、被験物質の投与に関連した影響は認められなかったとされている。林らは、本試験における NOAEL を 1.5%としております。担当の先生方には「本専門調査会としては、林らの見解を妥当と考え、本試験における NOAEL を雄で 913 mg/kg 体重/日、雌で 1,062 mg/kg 体重/日と評価した。」とおまとめいただいております。

発がん性のほうも引き続き説明いたしましょうか。

○今井田座長 発がん性までお願いします。

○角井課長補佐 34 行目「(4) 発がん性」でございます。カルミン及びコチニール色素を被験物質とした発がん性に関する試験成績として以下のような報告がある。

38 行目「①カルミン」、39 行目「a. Ford ら (1987) のラットを用いた二世世代にわたる試験」。これは前にも出てきたものでございます。上述の Ford ら (1987) のラットを用いた二世世代にわたる試験において、カルミンの投与による腫瘍発生の増加は認められなかったとされている。担当の先生方には「本専門調査会としては、本試験条件下においてカルミンの投与に起因した発がん性は認められなかったと判断した。」とおまとめいただいております。

45 行目「②コチニール色素」でございます。18 ページにまいりまして、「a. Mori ら (1991) のマウスを用いた発がん性試験」。Mori ら (1991) の報告によれば、B6C3F<sub>1</sub> マウス (各群雌雄各 50~55 匹) に添加物「コチニール色素」 (最高 6%) で 104 週間混餌投与する試験が実施されてございます。

こちら脚注「10」に書いておりますが、原著では 2 年間の平均被験物質摂取量が雄で各群 0、56.9、102.2 g/マウス、雌が 0、57.0、104.4 g/マウスと報告されていることから、2 年間で 730 日間、マウス体重を 20 g と仮定して事務局で試算してございますが、これでよろしいか御確認いただければと思っております。

5 行目に戻りまして、その結果、全動物が試験開始後 1 年以上生存したとされている。体重については、3%以上の投与群の雌雄、特に雌において被験物質の投与に関連した増加抑制が認められたとされている。摂餌量についても投与群の雌雄で減少傾向がみられている。腫瘍性病変については、いずれも対照群と投与群との間で発生率に差は認められなかったとされている。この内容は次のページの表 3 に記載させていただいております。なお、非腫瘍性病変についての報告はなされていない。そのほか、血液学的検査、血液生化学的検査及び器官重量については、被験物質の投与に関連した変化は認められなかったとされている。Mori らは、「コチニール色素」に発がん性及び発がんプロモーション作用はないと結論している。担当の先生方には「本専門調査会としては、3%以上の投与群の雌雄にみられた体重増加抑制を被験物質の投与に関連した変化と考えるが、本試験条件下において添加物「コチニール色素」の投与に起因した発がん性は認められなかったと判断した。ただし、Mori らが言及している発がんプロモーション作用については、本試験成績からは評価することができないと判断した。」とおまとめいただいております。

○今井田座長 では、13 ページの「(2) 急性毒性」からです。

毒性の担当をしていただいたのは中江先生でしたか。コメントをお願いします。

○中江専門委員 事務局に説明していただいたのは、塚本先生と私と事務局で相談した結果ですので、特に大きな追加点はありません。ただ、若干補足しておきますと、まず、13 ページ 45 行目からの Battelle の報告につきましては、一応、上 2 つの用量の体重増

加抑制を投与に関連した変化と考えたとしています。これは FAS17 ですので、細かいことは書いてごさいません。ですから、この体重抑制が、例えば食べなかったからなのかとか、そういうことはわかりませんが、一応体重抑制は「有意にあった」と記載がありますので、安全側に立ってそのように考えたということです。それから、14 ページの 34 行目から、Ford らの報告につきましても、実際には 15 ページに詳しいことが書いてあるわけですが、500 mg/kg 体重/日の投与群の雌でみられた膣炎あるいはリンパ節水腫及び尿路結石症を、一応今回は毒性変化としてとっています、発生頻度はそれほど高いものではありません。ただし、そこにも書いてあるように、とはいえ統計学的有意差があり、かつ、対照群の 2~6 倍であることと、Ford ら自身が投与に関連した変化である可能性を否定できないとっているという事実の 2 点から、これも安全側に立って、毒性変化である可能性を否定できないと判断したところです。

それから 16 ページ、29 行目からの川崎らの試験、これも詳しいことは 17 ページに書いてあるわけですが、3.0%の雌雄で細々といろいろな変化がみられたと書いてありますが、その中で、川崎ら自身が説明していることに関して了解できるものはそのまま了解いたしました、血清トリグリセリド濃度の低下、 $\gamma$ -GTP 活性の増加については説明されていない、またはできていないことと、やはり川崎ら本人が一部、被験物質投与に関連する変化である可能性を否定していないので、これもその 2 点をとって安全側に立った評価をしたところです。

それから 17 ページ、19 行目からの林らの報告ですが、これは実は学会抄録です。学会抄録については毎回のようには話が出ておりますのでどうしようかと思ったのですが、先ほど若干アレルギー性との関係で言及がありました、たん白質を低減した添加物「コチニール色素」であるというところに着目して、そのまま残したところであります。

○今井田座長 副担当だった塚本先生、何か追加のコメントはありますか。

○塚本専門委員 事務局と中江先生から御説明があったとおりで、特に追加はありません。

○今井田座長 では、委員の先生方、コメントごさいませんか。

○三森専門委員 評価書案の 14 ページ、33 行目からの Ford らの二世世代にわたる試験ですが、中江先生が御指摘されたように、確かに雌で膣炎とリンパ節水腫と尿路結石症が増えていて、これを投与と関連するという形でまとめていらっしゃるのですが、添付資料の 35 番の Table 3 を見ていただくと、確かに発生頻度が高く有意差がついているのですが、historical data がないのでちょっと難しいのかなという気がします。病理の専門家の方が何人もいらっしゃいますのでちょっと見ていただいて、表 3 の真ん中辺から、「Kidney」の下に「Urolithiasis」とありますね。それが雌の 500 mg/kg 体重/日投与群で確かに 12 例出ています。その下の「Lymph nodes」の「Oedema」のところは雌のコントロールで 3 例に対して 8 例ですね。それと、一番下の「Vagina」の膣炎のところはコントロールが 1 に対して最高用量で 6 例ということで、統計学的な有意性が出ていますね。これについて、この論文の筆者たちは NOAEL として 500 mg/kg 体重/日をとっ

て、今の 3 つの変化は自然発生性のものとして無視しております。

したがって、その辺について当専門調査会として、中江先生がおっしゃったように、投与との関連性が否定できないから 500 mg/kg 体重/日投与群は毒性が発現しているとみなすということでもよろしいのかどうか、御議論されたほうがよいと思います。

もう一点は、17 ページの 19 行目「b. 林ら (2008) のラット 90 日間試験」です。これは事務局にお伺いしますが、Meeting Abstract ですね。学会での講演要旨からのデータは reviewer の評価がされていないので、原則資料として使えない、もし載せたいということであれば参考程度にするしかないのかなと思うのですが、今までどうされてきましたか。

○角井課長補佐 基本的には、ガイドラインで、安全性に係る知見の場合には信頼性に欠けるものであっても引用するという方針もございまして、実際、過去にもこのような学会抄録、おっしゃるとおり reviewer の査読を経ていませんが、引用して評価していただいた例はあったかと思えます。ですので、是々非々で、個別に御判断かと思っております。

○三森専門委員 そうしますと、先ほどの Ford の論文について、これは NOAEL が 150 mg/kg 体重/日となりまして、後ほどの ADI 設定にも関係してくるかと思えますので、これについては病理の専門の方から御意見を伺えたらと思えます。

○今井田座長 今、三森先生が御指摘の Ford らの実験ですね。データとして出ている膣炎、リンパ節水腫、尿路結石症についての評価をどうするかということでございますが、筆者たちは最高用量の 500 mg/kg 体重/日でも有害影響は認められなかったと判断しているということですね。

ちょっとこの点に関しての御意見いただきましょうか。

○中江専門委員 その点に関しては、先ほどの私の補足の繰り返しになりますが、まず一つは、Ford ら自身が「投与に関係している可能性を否定できない」と記載しています。

それから、また繰り返しになって申しわけありませんが、確かにこの 3 つの変化は頻度的には低いので、生物学的に有意かという点については問題があると私自身も思います。ただ、対照群のデータが historical level の中で特に異常に低いとは思いません。繰り返しになりますが、発生頻度はそれほど高くはないが、統計学的有意性をもって、historical data として異常に低くはない対照群のデータより 2 倍から 6 倍上がっているということは事実として認識せざるを得ない。ですから積極的に、毒性学的観点から投与に関係するものだともものすごく強く主張しているわけでは全くありませんが、筆者ら自身も「否定することはできない」といっている以上、否定することはできないなと考えたということです。

○山添専門委員 一つ気をつけておかなければいけないのは、ほとんど吸収されない物質を投与しておいて、この組織に実際に物質が到達しているのかどうかも考慮しないと、このように全身に出ているというのを見たときに、本当に投与薬物に由来しているのかどうか、その辺を判断する必要があると思えます。

○梅村専門委員 私の意見は、特にリンパ節の edema は 0、3、2、8 匹と来ているので、用量相関性がないですよ。これはちょっととりたくないというのが私の意見です。ただ、膣炎と尿路結石症は、一応形としては用量相関性がある。ただ、この 2 つは実験条件というか、施設にすごく依存したような病変だなという気はするのです。ただ、そういう意味では、著者らが historical data で否定してくれるのであれば、それに追随することはできるのですが、中江先生からも御説明がありましたように、著者らも捨て切れないという中で、一応用量相関性がある変化ですので、この限られた情報の中で、これを毒性変化でないと結論するのは難しいのではないかと思います。

○今井田座長 毒性の先生方に順番に聞いてみましょうか。

○石塚専門委員 著者らが否定できないということなので、梅村先生の意見と同じなのですが、その前に確認させていただきたいのは、毒性試験のほうでカルミンがいろいろな名前で記載されているのは、すべてアルミニウムでキレートされている、いわゆる最初に定義されたカルミンを用いていると考えて評価してよろしいでしょうか。原本から読み取れない部分が何本かあったのですが。

○今井田座長 事務局でまとめていただいたのですが、この「カルミン」というのは、最初に定義したカルミンということですね。

○角井課長補佐 結論から申し上げますと、添加物「カルミン」の規格に合致したものだと思われま。というのは、JECFA の評価でこれが使われております。具体的には、38 ページから 39 ページにございますが、第 25 回会合、第 26 回会合で続けて評価しております。ここでアンモニウムカルミンについても生殖毒性試験成績であるとか多世代試験であるとか催奇形性試験であるとか、子宮内暴露相を伴う長期試験、みんな「アンモニウムカルミンについて」云々となっております。これらは 1981 年、1982 年当時の評価で、今、中江先生に御説明いただいた一連の試験は JECFA で参照されているものではありますが、publish されたのはかなり後になって、1987 年ですから 5 年後、6 年後に出ているものでございまして、この publish されている文献を見る限りは「カルミン」としか書いてございません。JECFA で評価したときの形跡をみますと、恐らくいわゆる「アンモニウムカルミン」、いずれも Davide Campari 社から提供されたものですが、そのようなものであったのではないかと推察されます。ただ、原著にはそういった確たる根拠となる記載がないということで、原著ベースで引用しまして「カルミン」と記載させていただいたものでございます。

○今井田座長 三森先生、先生の御意見としてはどちらでしょうか。

○三森専門委員 山添先生と同じなのです。吸収されがたいものに対して、このようにもともと spontaneous に出るようなものに毒性という形で持っていく。危ないものに対してはそちらの方向性で評価するのが毒性評価の原則ですから、確かに中江先生の御意見はよくわかりますし、そういう面では私も納得できるのですが、どうもこの変化だけでは毒性ととらなくてもいいのかなと思います。また、論文として最後の要約のところ

NOAEL が 500 mg/kg 体重/日と書いております。考察には、確かに「投与との関連性は否定できない」と、901 ページの Discussion の真中あたりに書いてあるのですが、897 ページの Abstract のところには、評価者としては 500 mg/kg 体重/日が no adverse effects、NOAEL と同じ意味だと思いますが、そのように、最終的な評価は 500 mg/kg 体重/日にしているのです。JECFA は 1981 年に評価していますので、そのときのデータにはこのデータは使っていませんが、多世代繁殖毒性試験のほうでは NOAEL が 500 mg/kg 体重/日なのですよね。それを support してきているので、もし本専門調査会で NOAEL として 150 mg/kg 体重/日をとるとなると、後ほどの ADI 設定ではもっと低くなるということですね。その辺のことも考えると、とらなくてもいいのかなという気もするのですが。

○廣瀬委員 今、コチニール色素が吸収されないといったお話だったのですが、いろいろな組織で着色があることを考えると、吸収されないというのも何かおかしい気がするのですが、その辺はどうなのでしょう。もし吸収されるということになれば、多少の毒性は出てもおかしくないと思うのですよね。ですから、吸収されるか、されないかをもうちょっと…。ここには何も書いていないのですよね。だから、その辺を確認する必要があるのではないかと思っていたのですが。

○今井田座長 ありがとうございます。何かまた一番最初の疑問に戻ったような気がしますが。

○塚本専門委員 吸収されるかどうかという根拠が文献 9、FAS17 の Battelle の 1962 年の記載ですが、この References の一番最初の「Battelle Memorial Institute」が「Unpublished report submitted to WHO」となっていて、これもまた先ほどの学会抄録をどうするのかというのと同じことになるとは思います。レビューを通っていないようなレポートなので、この辺はどのように考えたらいいかと思うのですが。

○今井田座長 非常に難しいですが、ただ、これも、先ほど中江先生が言われましたように「accumulation of colors」となっているだけで、どのような色、color かは書いていないのですよね。赤色なのか紫色なのか、そこら辺もわからないわけですが…。

○三森専門委員 普通「accumulation of pigments」という表現をしており、「colors」とは使わないと思うのですね。ですから、この被験物質の色だと思います。

○石塚専門委員 確認ですが、この試験で使われているカルミンの、カルミン酸の量自体は多分 50%ぐらいということで、898 ページの Table 1 が成分になるとは思います。50%はカルミン酸以外の成分が入っていて、それを総合して見ていると考えていたのですが、それでいいですか。カルミン自体は多分、吸収がほとんどないと思いますが、この場合、多分 50%別のもを見ているのかなとちょっと思っていたのですが。

○今井田座長 事務局、ここで使われているカルミンは、カルミン酸として 50%ということよろしいですね。

○角井課長補佐 先ほど申しましたように、成分規格上そうなっておりますので。

○中江専門委員 論文によればバッチが 4 つあるようですが、一番多くてカルミン酸の含量が 57%。バッチ 4 というのがそうですね。一番少なくて 46.1%です。ですから、おおむね 5 割前後。先ほどからの吸収云々の話は、Battelle の試験もそうですが、山添先生のお話もありましたように、一番最初に、もう一回やることになったのではありませんでしたっけ。

○今井田座長 「後でまた検討しましょう」ということになっていましたが、それがここだろうと思うのですが。

○山添専門委員 今のところなのですよ。

○中江専門委員 そうか。だから、廣瀬先生のお話もありましたが、やはり押さえておいたほうがいいとは思いますが、今、石塚先生が言われたように、あくまでも Ford の試験は、5 割はカルミン酸ではない。そういう話で言わないと、それはもうしようがないと思います。

○今井田座長 そうですね。前に議論したらよかったのかもしれませんが、今、問題になっている Ford らのカルミンのこと、カルミン酸としては約半分しかない——しかないというか、半分がカルミン酸。それから、次の川崎らのコチニール色素の試験、それから林らのラット 90 日間試験、これもコチニール色素としての試験だと思いますが、こちらはむしろ、規格としてはカルミン酸 5.7%となると思うので、こういうものを使ったデータとして、カルミンの評価をどうするか、難しいと思うのですね。割合が非常に低いということで、それを割合だけで換算していいのかということもあると思います。

中江先生、どう思われますか。

○中江専門委員 全くおっしゃるとおりで、遺伝毒性のときも話があったと思いますが、この評価書全体として見た場合に、それはもう、参考と言うとちょっと語弊があるかもしれませんが、類似のものとしてカルミンではデータが少な過ぎるので類似のもののデータを集めたのだと解釈しましたので、これはこれで「こうですよ」と、それぞれのものの評価をすればいいと思います。結論として、今の川崎さんのものと林さんのものは、もちろん大きな毒性が出ているわけではないので、「コチニール色素ではこうでした」というだけのことであって、そもそも添加物「カルミン」の評価に強く影響を与えるものではありませんから、例えば ADI 設定云々のときには、わざわざそれを使うことはないのであって、評価書の中にこれがあっても、それは構わないと思います。逆に、もしもコチニール色素なり、あるいはカルミン酸なりでものすごいデータが出たのであれば、もちろんそれは考えなければいけません、そうではないので、余り気になさることはないかと思えます。

○今井田座長 これは後ほど生殖発生毒性のところでも出てくると思いますが、江馬先生、今の点でコメントをいただけますか。要するに、コチニール色素等はカルミン酸の含量が非常に低いですね。そのデータをもとにカルミンとしての評価をすることに関して。

○江馬専門委員 コチニール色素とカルミンは、化学的な形態が違うわけですね。アル

ミニウムを挟んでいるので、単純には比較できないと思います。

○今井田座長 では、例えばコチニール色素のデータをもとにカルミンの NOAEL を外挿することに関しては、どうでしょうか。

○江馬専門委員 カルミンは吸収しないだろうという話ですが、コチニール色素についてはわかりませんね。吸収するとしたら、やはり毒性の出方は違ってきても不思議ではないと思います。

○山添専門委員 ですから、一部のアルミニウムが外れて吸収されると、カルミン酸として吸収されている可能性が出ているわけですよ。実際、組織で色がついているというのは恐らくそういうことだと思うので、わずかには出てくると思います。

○江馬専門委員 入る可能性があるなら、アルミニウムがついていない形のデータから計算して毒性量を出すことは可能だと思います。

○今井田座長 その含量の中から計算して、ですね。

○江馬専門委員 ただ、ものすごく低くなりますね。含量自体が低いですし。

○中江専門委員 その辺の話は、そもそも本当に吸収されるのか、吸収されたとしてそれはどのぐらいなのかがわからないと机上の空論をしていることになる。入らないだろうと言っているが組織に赤い色がつくではないか、それはどういう形で入っているのかという。それが今、全くわからないで話をしているので、その再検査というか、それをしてからもう一度話をしないと意見が言えないと思います。

○山添専門委員 最初の話に戻ったみたいですが、やはりカルミン酸としてどれだけ吸収されるのかが1つ要だと思います。

それと、実は私もちょっと気になって調べたのですが、コチニール色素の中に、majorとしては確かにカルミン酸なのですが、**extract**にはどうも他の類縁の色素が入っているらしいですよ。そういう抽出の文献があつて。精製のところで。ところが私も、ごめんなさい、その不純物の名称はわかるのですがデータを探せていないので、それが吸収されるものやら、されないものやら今のところ私はデータを持っていないですよ。そこで、一応今回、純度が低いということで皆さん不純物も気にいらっしやるので、それも含めて、可能であればその本体と、プラスアルファその物質の吸収について情報の提供をお願いするのが一番いいと思うのですが。

○林専門委員 確かにそれがあればいいですが、これは天然物でしょう。抽出物でしょう。だからロット等によってすごく大きく振れる可能性があると思うのですよね。

○山添専門委員 いえ、この論文のタイトルは「**Optimizing Conditions for the Extraction of Pigments in Cochineals**」といって、抽出の **optimize** をするための、「**Journal of Agricultural and Food Chemistry**」で、工業的に利用するためにどの条件がいいかを検討した論文なのです。だから多分、一般的にそういうものを利用していると思うのです。抽出方法として。それが記載されて、その中にどんな対象物があるかが一応 **journal** にはなっているので、すべてとは言いませんが、ある程度の単位で不純物の情

報が得られれば、それを見ておいたほうが今後の議論、何が抽出されているのかということもあるので、若干見るほうがいいのかなど。

今日の先生方の議論を聞いていて、毒性が、吸収されていないと説明がつかないような結果ですよね。そうすると、毒性を示す本体が何なのかというときに、本当に目的のカルミン酸なのか、そうでないのかを判別する必要があると思うので。

○今井田座長 そのデータを探すことはできますか。

○角井課長補佐 これは情報提供ですが、資料 1-2 の 18 ページ、森先生らの試験で使われた「コチニール色素」については、脚注「8」に記載させていただいていますが、カルミン酸は 29.8%含有されていて、ほかに乳糖 16%、灰分 8.2%云々ということで、最初、山添先生に御質問いただいていましたが、アルミニウムも微量ながら 22.4 ppm 入っているという状況でございます。先生から御指示いただいているのは、カルミンのカルミン酸以外の不純物についてということですね。

○山添専門委員 事前にご送付しておけばよかったのですが、ごめんなさい。一応コチニール色素の抽出をされていて、どういう物質と一緒に吸収されていて、色のついている物質が他に 2 種類あるようです。それがあって、量的にはもちろん少ないのですが、そういうデータがあるので、それを一応、なかったらなかったで判断するにしても、それが吸収されるというデータがあるかどうか、1 度見たほうがいいのかもしいかな。

○角井課長補佐 確かに米国成分規格で微妙な書き方をされていて、今、染色素は「主としてカルミン酸」であると書いてあるんですね。要するに、メインの coloring principle は carminic acid であると書いてあるのですが、その「主として」というのが確かに引っかかるころではありまして、もしかしたら、先生おっしゃるように染色、発色するような物質が他にあるのかもしれない、その辺の含みをした記載である可能性はあるかもしれません。

○山添専門委員 このデータを見ると、波長を変えて 275、420、500 nm でとっていて、同じように赤い色素の 500 nm でピークのあるものを検出して、名前もここに出ているので、「flavokermesic acid」とか「kermesic acid」とか、そういう名前が出ていますので、それを知っていて何もしないというのはちょっとまずいので、今になって申しわけありませんが、ちょっとチェックしてほうがいいのかと思います。

○角井課長補佐 実際に出回っている市販品はございますので、その中に、例えば山添先生に御示唆いただいたような物質があるかないか、あればどのぐらいなのかという実態把握はできる可能性があるかと思います。

○今井田座長 では、トライだけでもしていただいて、調べてもらうことにしましょう。

戻って、Ford らのデータの NOAEL をどうするかという本専門調査会としての結論をまだ出していないと思いますが、カルミンそのものは代謝されないかもしれませんが、その他のいろいろなものもありますし、先生方の意見を伺っていると、カルミンそのものではないかもしれませんが、これを投与した実験としては、やはり腫瘍とかリンパ節水腫、

尿路結石症等の統計学的に有意な変化をとってはどうかと思うのですが、いかがですか。

○三森専門委員 この付箋紙のついている 35 番でしょうか、901 ページに Discussion が載っております。そこを読むと、今、問題になっているリンパ節水腫と膣炎、それと尿結石については、「However」というところから書いてありますように、「投与との関連の可能性は完全には否定できない」と書いてあります。そして一番最後のパラグラフの「in summary」のところには、結局、500 mg/kg 体重/日投与までの用量では no adverse effects だと記載しております。「有害作用はない」と、筆者たちは評価しているということですね。本添加物専門調査会が、投与に関連するものも adverse effects ととるということであれば、中江先生がおっしゃっているような形で 500 mg/kg 体重/日には有害作用があり、したがって、NOAEL はその下の 150 mg/kg 体重/日という論理でいけると思いますが、もう一回確認させていただけますか。事務局、それでいいのですね。有害作用の定義というのは、食品安全委員会の添加物専門調査会としては、投与との関連性があった場合、それが有害性かどうかわからなくても NOAEL の根拠にするのですね。今までそうしてきましたね。

○江馬専門委員 そのところは非常に難しく、例えば、さっきから出ている吸収しないものをどうするか。投与との関連は確かにあるわけですが、その投与したものがどうか分からない。そういう場合はどうするか。例えば後で、生殖発生で出てくるのですが、児の体重低下で NOAEL 500 mg/kg 体重/日を私は 50 mg/kg 体重/日としたのです。その場合、わからないですね。投与による影響であることは確かですが、与えた化学物質そのものによる影響かどうかは判断できませんよ。実験データから見て NOAEL をその影響が出た下へ持っていかざるを得ないということにもなってくると思います。これは非常に根本的な問題で、やはりさっきから出ている吸収するか、しないかが鍵になると思います。

○今井田座長 非常に難しいというか、根本的な問題だと思うのですが…。

○中江専門委員 カルミンに関しては、何度も同じことを言うことになりませんが、要は吸収するか、しないかがわからなければ何も言えません。一方、このものに関しては 50% がカルミンでないので、それらが吸収される可能性は十分にあり、それらの毒性であるかどうかはともかく投与に関係する変化を起こすこともあり、かつ、それが毒性であることもある。このものは、何もカルミンとはいっていないのですよ。カルミンというか、カルミン酸のアルミニウムキレートとは言っていないので、あくまでもここで言うところの添加物カルミンのものという意味でとらえれば、そのものが吸収されなくても、毒性があってもおかしくない。そういう前提で話をしなければいけないと思います。

それから、この件に関して、リンパ節水腫は梅村先生がおっしゃったように外してもいいと思いますが、膣炎とそれに関しては、私は外さないほうがいいと思うわけです。Ford は、確かに三森先生がおっしゃったように実に歯切れの悪い書き方をされていて、treatment に関係する possibility は「cannot be entirely ruled out」と書いているので

す。物すごく歯切れが悪いのです。だから毒性変化がある、ないではなく、この人たちは、実際には投与に関係する変化であるかどうかとも判断していない。ただ、完全に否定はできません。いわば逃げているわけですよ。ですが、ニュアンス的に彼らは毒性変化と違うのだとりたいので、それで最終的な結論は、500 mg/kg 体重/日でも毒性変化はなかったとしているのです。

最初に申し上げたように、私は、それを重々わかりながら、でも、そう言われてしまったらしようがないよねと言っているだけなので、これも繰り返しですが、ものすごく積極的にこれを毒性ととってくださいと言っているわけではないので、ここの議論でこれはとらないでいざらうとおっしゃるのであれば、別に私はそれに強く反対するものではありません。最初から何遍も申し上げているように、この変化は、発生頻度は極めて少ないです。そこは誤解のないようにお願いします。

○今井田座長 難しいですね。

○塚本専門委員 Ford らの論文の Table 3 ですが、先ほど中江先生からも御説明があったように有意差がついていて、投与と関係ないとはいえないということで NOAEL を下げたわけですが、さっき見ていて気がついたのは、通常の厚労省委託の試験だと大体 1 群 10 匹程度ですよ。この試験ではコントロールがスタート時点で 90 匹、投与群 3 群が 54 匹ともものすごい数で、合計 450 匹ぐらいですか、カルミンのためにラットを使っているわけです。これだけ数を増やすと意味のない有意差がついてくる可能性はどんどん増えてくるわけで、どの程度までこの有意差を信用するのか、しないのかということは、やはりこの有意差だけでなくもう少し、それ以外の、ちょっとうまく言えませんが、それ以外のところで考慮すべきものかなという気もします。

○三森専門委員 お言葉ですが、これは 104 週間、2 年間の飼育試験ですから、10 匹では評価できません。ですから 50 匹以上使うのは鉄則ですので、こういうことが起こる可能性は十分あるということです。それも考慮した上で評価すべきです。しかし、今のディスカッションは非常に難しいと思うのですよ。

○今井田座長 結論出ないですよ。

○三森専門委員 結論がない。エンドレスディスカッションですよ。ですから「投与との関連性が否定できないのならば安全サイドに立って毒性とみなす。」で進めるしかないのではないかと思います。

○山添専門委員 ここで一番大事なのは、今回のカルミンの毒性がカルミン酸に由来するのであれば議論を決められると思うし、そうでないならば、もう一度見て状況を判断しないといけない。

○今井田座長 そうですね。ただ先生、この状態ではそこら辺の判断ができませんよね。この Ford らの実験も、結局カルミン酸としては半分しか入っていないデータで、半分は unknown というか、カルミン酸ではないもののデータを見ているわけですので、そこら辺の判断が非常に難しいと思うのですが…。

○山添専門委員 なぜかという、多分、製品によって含量が違うわけですね。そうすると、そのものの安全性がカルミン酸に由来すれば、それぞれ量によってそれなりの安全性を一応評価したことになりますが、そうでなかったら評価になりませんよね。

○今井田座長 そこが非常に大事なポイントだと思うのですね。でも、今あるデータはこれだけですので、今あるデータで判断せざるを得ないというか、これでだめだというならば、もうちょっと追加のデータを要求するということはあるかもしれませんが、結局同じような話になってしまうかもしれませんね。

いかがいたしましょうか。これだけディスカッションしましたので、議事録にはしっかりと残っていると思うので、先ほど三森先生からありましたが、この Ford らの試験のことで言えば、今回、この NOAEL としては 150 mg/kg 体重/日にとってはどうかと思います。いかがですか。

(「はい」と声あり)

○今井田座長 ありがとうございます。

他の毒性試験について、何かコメントございますか。

発がん性のほうに入ってしまいますが、コチニール色素を用いてマウスの試験が行われています。その中に「発がんプロモーション作用」云々という言葉が出てきていますが、論文にある試験は、いわゆる発がん性試験が行われたということだと思います。最後の中江先生たちの判断がありますが、「発がんプロモーション作用については評価することができないと判断した」という書き方があります。これでよろしいですね。多分、ここは、マウスを用いた発がん性試験ですので、自然発生の腫瘍が出てきます。その自然発生の腫瘍の発生に対して投与群で発生頻度の促進があったかどうか、という意味であろうとは思いますが。ここで「プロモーション」云々という言葉はちょっと適切でないような感じもしますので、この評価のとおりにさせていただきます。よろしいですね。

(「はい」と声あり)

○今井田座長 ありがとうございます。

それでは、次へ進みます。

生殖発生毒性について、事務局から説明をお願いします。

○角井課長補佐 19 ページ、4 行目「(5) 生殖発生毒性」です。

カルミン等及びコチニール色素を被験物質とした生殖発生毒性に関する試験成績として以下のような報告がある。

8 行目「①カルミン等」、9 行目「a. Schlüter (1970) のマウス単回皮下投与発生毒性試験」でございます。経口投与による試験ではないので参考データですが、Schlüter (1970) の報告によれば、妊娠 8 日の NMRI/Han マウス (各群 9~11 匹) の背部にリチウムカルミン又はナトリウムカルミンを単回皮下投与し、妊娠 19 日に帝王切開し、着床数、胚吸収数及び胎児数並びに胎児の奇形及び発育遅延をみる試験が実施されている。その結果、胚吸収率は、対照群と比較してリチウムカルミン投与群及びナトリウムカルミン

投与群で増加したとされています。胎児の奇形発現率は、対照群と比較してリチウムカルミン投与群で 15.7%、ナトリウムカルミン投与群で 2.4%とリチウムカルミン投与群で明らかな増加がみられ、外脳並びに肋骨及び椎骨の奇形が多くみられたとされている。胎児の発育遅延発現率は、対照群と比較してリチウムカルミン投与群で 3.7%、ナトリウムカルミン投与群で 21.2%であり、発育遅延部位は胸骨及び頭蓋冠に局在していたとされている。また、臓側卵黄囊上皮に赤色素の沈着が認められたとされている。Schlüter は、リチウムカルミンの投与による奇形については、カルミンそのものよりも金属リチウムが関与したのではないかと考察している。

12 行目「b. Schlüter (1970) のマウス経時注射投与発生毒性試験」ですが、こちらも経口投与ではないので参考データであります。Schlüter (1970) の報告によれば、妊娠 NMRI/Han マウス (各群 7~10 匹) にリチウムカルミンを妊娠 6 日、8 日、10 日、12 日又は 14 日に、経路不明ですが単回注射投与し、妊娠 19 日に帝王切開し、胚吸収数並びに胎児の奇形及び発育遅延をみる試験が実施されている。その結果、妊娠 6 日、8 日、10 日、12 日及び 14 日投与群での奇形率はそれぞれ 6.2%、15.7%、4.6%、1.1%及び 1.2%であったとされている。Schlüter は、みられた奇形の種類から妊娠早期に発生していたと推察し、妊娠 6~10 日における投与にのみ催奇形性が認められたと結論している。Schlüter は、投与時期が漿尿膜胎盤の形成時期を過ぎると被験物質の催奇形性が減弱することから、本知見は、リチウムカルミンがトリパンプルーと同様に臓側卵黄囊上皮に蓄積することにより卵黄囊胎盤におけるリソゾーム機能を抑制して催奇形性を発現するという仮説を支持するものであるとしている。他方、胚吸収及び胎児発育遅延については、妊娠 10 日以前の投与群及びそれ以降の投与群のいずれにおいても同様にみられたとされている。これについて Schlüter は、作用機序は不明であるとしております。

32 行目「c. Schlüter (1971) のマウス単回腹腔内投与発生毒性試験」。こちらも経口投与による試験ではないので、参考データであるということです。

Schlüter (1971) の報告によれば、妊娠 8 日の NMRI/Han マウス (各群 8~10 匹) について、対照群のほか、リチウムカルミン (炭酸リチウム 1%を含むカルミン 2.5%又は 4.0%水溶液) (いずれもカルミンとして 100 mg/kg 体重) 投与群又は炭酸リチウム (40 mg/kg 体重) 投与群を設定し、それぞれ単回腹腔内投与し、妊娠 19 日に帝王切開する試験が実施されている。その結果、リチウムカルミン投与群における胚吸収数並びに胎児の奇形及び発育遅延は、2.5%水溶液で投与した場合及び 4.0%水溶液で投与した場合のいずれにおいても、すなわち炭酸リチウムの投与量が変わってもほぼ同様であったとされている。一方、炭酸リチウム投与群においては、胚吸収数は増加したものの、奇形が認められた胎児は 1/79 匹にとどまり、発育遅延の発生率は対照群のそれを超過しなかったとされている。リチウムカルミン投与群でみられた奇形については、外脳に限局した外表奇形並びに肋骨及び椎骨に局在した骨格奇形であったとされている。以上より Schlüter は、炭酸リチウムの濃度にかかわらずカルミン投与群に奇形がみられたことから、リチウムカル

ミンの投与による奇形はカルミンによるものであることが示唆されたとしている。

9 行目「d. Grant ら (1987) のラット発生毒性試験」。Grant ら (1987) の報告によれば、発情前期又は発情期の雌 Wistar ラットを雌雄 1:1 で一夜交配し、妊娠が確認されたもの (各群 30 匹) にカルミン (最高 1,000 mg/kg 体重/日) 又は塩化ナトリウム+塩化カリウム+塩化アンモニウムの混合水溶液 (5 mL/kg 体重/日、以下これを「塩投与群」といいますが、妊娠 0~19 日に反復強制経口投与し、妊娠 20 日に帝王切開する試験が実施されております。その結果、試験期間を通じて母動物に毒性兆候は認められず、妊娠率及び妊娠期間中の母動物の体重増加については対照群と投与群との間で差は認められなかったとされている。黄体数については、1,000 mg/kg 体重/日投与群及び塩投与群で増加が認められたとされている。着床数については、全投与群で増加傾向、塩投与群で増加が認められたとされている。着床前胚死亡数については対照群と投与群との間で差が認められなかったが、着床後胚死亡数については 1,000 mg/kg 体重/日投与群及び塩投与群で増加が認められ、着床後の胚死亡のほとんどは吸収によるものであったとされている。平均同腹生存児数については全投与群で増加傾向がみられたとされている。平均一腹重量については全投与群で増加傾向、平均胎児体重については全投与群でわずかな減少傾向がみられたが、いずれについても有意差が認められたのは塩投与群のみであったとされている。骨格異常検査において投与群に奇形は認められず、内部器官に異常は認められなかったとされている。Grant らは、黄体数の増加については被験物質の投与以前に生じていたと考えられること、吸収及び着床後胚死亡数の増加については着床数の増加を維持できなかった結果であると考えられること、平均同腹生存胎児数に悪影響は認められていないこと及び平均胎児体重の減少は児数の増加によるものであると考えられることを指摘している。以上より Grant らは、ラットに妊娠期間を通じてカルミンを最高 1,000 mg/kg 体重/日反復傾向投与しても胚の発生に問題となるような影響はなかったと結論している。担当の先生には「本専門調査会としては、1,000 mg/kg 体重/日投与群でみられた着床後胚死亡数はわずかであり、被験物質の投与の影響ではないと判断した。」とおまとめいただいております。

41 行目「e. Grant & Gaunt (1987) のラットを用いた四世代にわたる試験」。前にも出てきておりますが、上述の Grant & Gaunt (1987) の報告によれば、生殖への影響に関しては、各世代の対照群と投与群との間で妊娠率に差は認められなかったとされている。生後 21 日間の児動物の体重については、F<sub>1b</sub> の生後 14 日に 150 mg/kg 体重/日投与群で、生後 21 日に 500 mg/kg 体重/日以上以上の投与群で低値が認められたほかは、各世代の対照群と投与群との間で差は認められなかったとされている。児動物の生存率については、F<sub>3</sub> の 500 mg/kg 体重/日投与群で高値が認められたほかは、各世代の対照群と投与群との間で差は認められなかったとされている。児動物の発達については、F<sub>1b</sub> 及び F<sub>2</sub> の 150 mg/kg 体重/日以上以上の投与群で切歯萌出のわずかな遅延が認められたほかは、各世代の対照群と投与群との間で差は認められなかったとされている。発生への影響に関しては、

着床率、着床数及び生存胎児数について、対照群と投与群との間で差は認められなかったとされている。なお、F<sub>1a</sub> の 150 mg/kg 体重/日投与群においてのみ着床後胚死亡率及び黄体数の増加が認められたとされている。F<sub>3</sub> の骨格異常検査においては、投与群の頭蓋骨骨化並びに第 4 仙椎突起、神経弓を伴う尾椎骨、第 14 肋骨及び胸骨の骨化に影響はみられなかったとされている。以上より、Grant & Gaunt は、本試験における生殖発生毒性に係る NOAEL を、本試験の最高用量である 500 mg/kg 体重/日と結論している。担当の先生には「本専門調査会としては、F<sub>1b</sub> 児動物の 150 mg/kg 体重/日以上投与群にみられた体重の低値に基づいて、本試験における NOAEL を 50 mg/kg 体重/日と評価した。」とおまとめいただいております。

22 行目「②コチニール色素」、23 行目「a. Tanaka (1995) のマウス生殖発生毒性試験」。Tanaka (1995) の報告によれば、5 週齢の CD-1 マウス (F<sub>0</sub>) (各群雌雄各 10 匹) にコチニール色素 (最高 2.0%) を混餌投与して、交配し、得られた児動物 (F<sub>1</sub>) (各群各腹雌雄各 1 匹) についても離乳後から 9 週齢になるまで親動物と同様の投与を行う実験がされております。結果、F<sub>0</sub> では、体重及び摂餌量に有害影響は認められなかったとされている。探索行動の観察においては、雄では有害影響は認められなかったが、1.0%以上の投与群の雌で移動距離及び平均移動速度の低値が認められたとされている。Tanaka は、被験物質は投与時期によって投与動物の行動に作用し、当該作用には性差があると推定している。妊娠率は全群で 100%であり、平均同腹生存児動物数、平均一腹重量、出生時児動物の性比に有害影響は認められなかったとされている。F<sub>1</sub> 児動物の雌の生存率は、生後 21 日において、対照群で 100%であったのに対し、0.5%投与群で 89.8%、1.0%投与群で 87.1%、2.0%投与群で 93.0%であり、いずれの投与群においても統計学的に有意な低値が認められたとされている。これについて Tanaka は、被験物質の投与に関連したものであると推定している。摂餌量については有害影響が認められなかったとされている。体重については、哺育期間中の 1.0%以上の投与群の雌雄で増加抑制が認められたが、離乳後の雌雄では有害影響は認められなかったとされている。この体重増加抑制について Tanaka は、被験物質の投与に関連したものであると推定している。神経行動学的検査においては、平面立ち直り運動について、生後 4 日の 0.5%及び 2.0%投与群の雄でスコアの低値がみられ、有意な用量相関性が認められたが、その他のパラメータについては雌雄ともに有害影響は認められなかったとされている。Tanaka は、生後 4 日の雄に認められた平面立ち直り運動スコアについて、生後 7 日には対照群と投与群との間で差は認められないことから、当該低値については成長に応じて回復することが示唆されるとしている。探索行動の観察においては、3 週齢時の 0.5%以上の投与群の雌で排便回数の低値等、1.0%以上の投与群の雌で方向転換回数の高値、2.0%投与群の雌で平均移動速度の高値が認められたが、雄では有害影響は認められず、8 週齢時の雌雄では有害影響は認められなかったとされております。マルチプル T 型水迷路試験においては、2 回目の試験においてのみ 0.5%以上の投与群の雌でエラー回数の増加及び 1.0%以上の投与群の雌でゴール

到達時間の遅延がみられたが、3 回目の試験においては差が認められず、雄では対照群と投与群との間に差は認められなかったとされている。これについて Tanaka は、被験物質によって投与動物は迷路学習が阻害されたが、その後回復したと推定しております。担当の先生には「本専門調査会としては、探索行動検査において 1.0%以上の投与群の雌でみられた移動距離及び平均移動速度の変化に用量反応関係はみられないことを確認した。0.5%以上の投与群でみられた生存率の低値については、その程度は小さく、用量反応関係はみられず、更に小児動物数の対照群において良好な飼育環境にあったために差が有意になったと推察した。また、平面立ち直り反応における 0.5%以上の投与群の雄でみられたスコアの低値に用量反応関係はみられないこと、探索行動検査において 0.5%以上の投与群の雌でみられた指標の変化には用量反応関係がみられず、検査日を通じた一貫した傾向は認められないことから、本専門調査会としては、これらの変化は被験物質の投与による影響ではないと考えた。本専門調査会としては、哺育期間中の F<sub>1</sub> 児動物の 1.0%以上投与群の雌雄で観察された体重増加抑制に基づいて、本試験における NOAEL を 0.5%と評価した。」とまとめていただいております。

○今井田座長 生殖発生毒性ですが、江馬先生、コメントをお願いできますか。

○江馬専門委員 最初の Schlüter の実験は、多分、腹腔内とか皮下投与、投与経路のわからないものがありますので、参考になっています。

吸収されれば、卵黄嚢に蓄積して胚への栄養供給の阻害をするので催奇形性が出るということですが、げっ歯類では、血絨毛型の胎盤ができる前は卵黄嚢が embryo への栄養の供給源として重要な役割を演じるので、そういうことがあります。霊長類では卵黄嚢がそれほど重要な役割を演じませんので、霊長類では催奇形性はないというのが定説です。なので、この機序が本当だとすると、多分げっ歯類に特有な作用だと思います。

経口投与の実験は、非常に悩ましいデータが 3 つあります。

Grant (1987) の報告は、文献 27 の Table 1、914 ページ「Post implantation losses」のカラムをごらんいただきますと、1,000 mg/kg 体重で 0.96。着床数 12 に対して 0.96、これは頻度としては非常に低いと思います。12 の embryo が着床していれば、多分 1 つぐらいは対照群で死亡が出てもおかしくないと思いますが、対照群で 0.15 となっています。対照群が極端に低値ですので有意差が出たのではないかと思います。被験物質の投与の影響ではないと結論しました。

Grant & Gaunt は文献 26 の 908 ページ、Table 4 と Table 5 をごらんください。ここで体重の低値というのが、Table 4 の一番上、「Pup weight」ですね。対照群が 49.9 g、その次が 50.3 g、45.5 g、44.8 g。それで 150 mg/kg 体重/日と 500 mg/kg 体重/日に有意差がついています。隣の表を見ていただくと、切歯萌出、「Tooth eruption」の下のドーズで 2 つ有意差がついているのは、多分、体重低値に起因したものだと思います。著者らは、有意差のあった投与量で児の数が多かったから体重が低下したので、これは投与の影響ではないと言っているのですが、対照群と 50 mg/kg 体重/日のところを見ていただ

くと、対照群の児の数が 9.5、50 mg/kg 体重/日投与群が 10.7 となっています。10.7 というのは 150 mg/kg 体重/日投与群の 10.9 と差がありません。下へ行って「Pup weight」を見ていただくと、対照群で 49.9 g、50 mg/kg 体重/日投与群で 50.3 g。児の数が多ければ体重が減るかという、そうではないです。なので、この程度の児数の差では体重低下まで引き起こさないだろうと思います。150 mg/kg 体重/日で影響ありとして、NOAEL を 50 mg/kg 体重/日と評価しました。

それから、コチニール色素のデータは文献番号 53 の Table 2。この実験は、例数が少ないということが 1 つ。それから、必ずしも影響が出たエンドポイントが dose に対応していない。この実験の傾向としては、1.0%で強く出ている。データを通してみるとそういう傾向が出ている実験で、データがはっきりしているのは雄の体重の低値かなと見まして、NOAEL を 0.5%と設定しました。

○今井田座長 今回の説明に関して、何か御意見、御質問ございますか。

○三森専門委員 今回の最後の点で NOAEL が 0.5%というのは、mg/kg 体重換算をされていない理由が何かあるのですか。

○角井課長補佐 脚注に試算はしているのですが、このような試算がよろしいかどうか。結局、交配・妊娠・哺育期間中で体重がかなり変わりますので、そこを考慮して算出すべきか。または、いつもの JECFA で換算するのであれば単純に 1,500 を掛ければいいので 750 mg/kg 体重/日となりますが、細かく計算してみると、この脚注のように換算されるということでございます。

このようなやり方でいいかどうか、御指摘いただければと思います。

○中江専門委員 論文 53 の Table 1 に「Chemical Intake」は出ていますが。

○今井田座長 これから出せるのですか。

○江馬専門委員 出せると思います。農薬などは多分、一番低いところを取っています。

○今井田座長 そうすると幾つになるのですかね。

○江馬専門委員 718.1 mg/kg 体重/日。

○森田専門委員 今回の Tanaka の論文で、評価書 23 ページの 21 行目から 23 行目にかけて、迷路学習の阻害が雄では 0.5%、雌では 1.0%と書いてあって、「投与動物は迷路学習が阻害されたが、その後回復した。」という書き方なのですが、この阻害されたという点に関しては、筆者は全く取り上げていないのでしょうか。評価としては。

○江馬専門委員 筆者は、「投与の影響だ」という書き方をしています。

○森田専門委員 ということは、この場合、雌では 0.5%でも有害影響があったととらえているということでしょうか。

○江馬専門委員 はい。

○森田専門委員 先生の御意見としては、0.5%のこういうものは、もうとらないと理解すればよろしいのでしょうか。

○江馬専門委員 この Table 6 の「0.5%」のカラムの、下の雌の段、差が出ているのは

「2日目」、2日目だけなのです。1日目は変わらないし3日にはもう対照群と変わらないので。1日だけですし、とらなくてもいいのではないかと思います。雌に偏って出ているのですが、雌に偏った理由がないのですよね。そういう事実があるだけで、通常、何らかのホルモ的な影響がなければ雌雄差はそれほど出ないと思いますので。

○今井田座長 その他、生殖発生毒性に関して何かございますか。

○角井課長補佐 しつこいようで、すみません。

先ほどの Table 1 の摂餌量、「Chemical Intake」が出ているというお話でしたが、先ほど脚注で御説明させていただいたのは、まさにこの数字を使っています。これは pre-conception、mating、gestation、lactation と各段階を追ってバラバラな数字なのですが、結局この試験の投与量としてはどう算出したらいいのか、その辺を御示唆いただければと思います。

○江馬専門委員 一番簡単なのは、平均して出すことだと思います。農薬などは一番低いところ。正確には、影響が出た、その影響を及ぼしたと考えられる投与時期にすべきだと思いますが、それははっきりわからないので、安全サイドに立って一番低い値をとるのが農薬等でやっている方法だと思います。

○今井田座長 その他、よろしいですか。

御出席いただいている小林先生、御意見ございましたらお願いします。

○小林専門参考人 今までの議論でよろしいと思います。Tanaka らの論文ですが、22 ページで生存率について述べていまして、対照群で 100%だったのに対してその他の投与群では 89%だとか 93%と統計的に有意な低値が認められたとありますが、用量相関性もないことから、意味のある低値だとはとらなくていいと追加いたします。

○今井田座長 ありがとうございます。

それでは、アレルギー性に進みたいと思います。

説明をお願いします。

○角井課長補佐 23 ページの 37 行目「(6) アレルギー性」でございます。

コチニール色素及びカルミン酸を被験物質としたアレルギー性に関する試験成績として以下のような報告がある。

41 行目「①コチニール色素及びカルミン酸」、42 行目「a. Hamano-Nagaoka ら (2007) のマウスを用いた膝窩リンパ節試験 (PLNA)」でございます。

Hamano-Nagaoka ら (2007) の報告によれば、7 週齢の BALB/c マウス (各群雌 5 匹) の右後脚足蹠にコチニール色素、高度精製コチニール色素又はカルミン酸 (いずれも 0.5 mg/マウス) を 50  $\mu$ L 水溶液として、左後脚足蹠に同量の生理食塩水を 12 日間おきに 2 回皮下注投与し、2 回目の投与 2 日後にと殺して膝窩リンパ節のリンパ球をみる膝窩リンパ節試験 (PLNA) が実施されている。その結果、高度精製コチニール色素投与群及びカルミン酸投与群では PLN cellularity index が 1.1 及び 1.3 と上昇が認められなかったが、コチニール色素投与群では 2.2 と上昇が認められ、他の 2 群との間に有意差が認め

られたとされております。

この試験につきまして、参考資料 1-1 として、国立医薬品食品衛生研究所の手島先生にコメントをいただいています。「添加物「カルミン」についてのアレルギー性に係る試験成績について」というタイトルの 1 枚紙でございます。

まず「1. 評価書（案）の記載について」ということで、評価書（案）において引用されている、Hamano-Nagaoka ら（2007）により報告された「コチニール色素」についての PLNA に関する試験成績については適切に記載されているものと考えますと。

「2. 当該試験成績の評価について」ということで、Hamano-Nagaoka ら（2007）によるコチニール色素についてのマウスを用いた PLNA の結果から、「コチニール色素」については、PLN cellularity index が 2.2 であり、カルミン酸や高度精製コチニール色素の PLN cellularity index（1.3 及び 1.1）と比較して、有意に高い結果が得られており、アレルギー性の懸念が否定できないと判断します。一方で、精製を行ってタンパク質含量の低減した「コチニール色素」については、精製前のもものと比較して明らかにアレルギー性が低下しており、アレルギー性の本体は、タンパク質成分であると考えられ、高度精製コチニール色素については、アレルギー性の懸念はないと判断します。また、カルミン酸については、本試験の結果からはアレルギー性の懸念はないと判断します。

以上でございます。

○今井田座長 アレルギー性のところまで来ましたが、手島先生の御意見もでございます。

それから、今日は時間が来ていますので、もう入れませんが、ヒトにおける知見のところではアレルギーの症例が出ております。ヒトにおける知見もあります。

このアレルギー性のところについて、発言がございましたらお願いします。

○森田専門委員 まず、手島先生に御意見をいただいた部分ですが、本文にも「高度精製コチニール色素」と書いてあるだけで、どの程度タンパク質が除去されたかは、はっきりしておりません。それから、これはあくまでもカルミン酸ではなくてコチニール色素を精製したということで、カルミン酸に近いものなのか、カルミン酸がどの程度含まれているのか、そういう言及もありませんので、今回評価項目であるカルミンに対してこの結果をどう考えればよいか。という辺りは、この論文をもってしても不明です。もちろんカルミン酸に対してはアレルギー性がなかったということは示されているのですが。それから、恐らく次回になると思いますが、ヒトにおける知見でも、コチニール色素であったりカルミン酸であったりカルミンであったり、いろいろな物質の投与があつて…。これは確認なのですが、今回評価するのは、やはりカルミンなのですね。カルミン酸でどうだったかというのはある程度文献からわかるかもしれませんが、評価物質がこのカルミンというものですと、JECFA 等の定義を見ても、今回、厚労省が出してきているものを見ても、カルミン酸を 50%含んでいけばいいということで、あとは規格のない部分がほとんどです。タンパク質についても 25%以下であれば、かなり大量に含んでいてもいいということなので、先ほどからのお話でもあるように、カルミンという物質が与えられた場合、一体何

が原因となって影響を及ぼしているのか、結局のところ、全く不明という結果になってしまうのではないかと懸念がございます。ですから、もし分かるようであれば、こういうやり方がいいかどうかはわかりませんが、現在、例えばカルミンとして既に許可されている物質がカルミン酸以外の夾雑物——と申していいかどうかわかりませんが——、どういったものをどの程度含んでいるのかというデータがありましたら、それも見せていただければと思います。いかがでしょうか。

○今井田座長 いかがですか、厚労省等から詳しいデータをとることはできますか。

○角井課長補佐 先ほど山添先生から御指示がありましたものとちょっと関係してくると思いますが、技術的には、それがあつかないか、あればどのくらいか指示することは可能かと考えます。

○今井田座長 では、よろしく申し上げます。それから、これはヒトのところではアレルギー症例が出ているようであり、今のアレルギー性のあるところの試験の評価も含めてですが、アレルギーの専門家の先生を次回ぐらいにお呼びして、議論に加わっていただくのはどうですか。

○森田専門委員 ぜひお願いしたいと思います。

○今井田座長 では、その点も含めて事務局のほうで対応していただけないでしょうか。

○角井課長補佐 特にどのような点で御依頼すればよろしいでしょうか。お願いするにしても、その方にどのようなことをお願いしたらいいか。先方に聞かれる可能性がありますので、ポイントとなるようなところを2~3挙げていただけるとありがたいのですが。

○今井田座長 どういったらいいでしょうね…。森田先生、何かありますか。アレルギーの専門家の先生をお呼びするという事柄で。

○森田専門委員 やはりこの内容を評価して、結論が出せないものが多いとは思いますが、カルミン酸が問題となっているのか、夾雑物なのか、コチニール色素そのものなのか、これはアレルギー性ありと判断していいのかどうか、そういった点ではないかと思っております。

○今井田座長 わかりますか。いいですか。

○角井課長補佐 では、そのラインでまた御相談させていただきたいと思っております。

○今井田座長 よろしく申し上げます。

ちょっと尻切れトンボになってしまいましたが、もう時間が来ましたので、今日の議論は一応ここで止めて、次回以降の評価に回したいと思っております。よろしいですか。

(「はい」と声あり)

○今井田座長 それでは、とりあえず今日はここまでとさせていただきます。

○角井課長補佐 幾つか補足資料要求に関する御示唆をいただいておりますが、とりあえず次回をやって、一通り終わってから、補足資料要求全体をどうするのか最終的な御指示をいただけるという理解でよろしいでしょうか。要するに、今の時点で補足資料要求するわけではなくて、次回の審議を待ってということではよろしいですか。

○今井田座長 それでよろしいですか。多分、今やっても補足資料は次回までに間に合い

ませんよね。であれば、次回アレルギーとかヒトのデータをやりますので、それが終わってからまとめて補足資料を要求するというのでいきたいと思います。よろしいですか。

(「はい」と声あり)

○今井田座長 ありがとうございます。

それでは、今後の進め方等について、事務局からお願いします。

○角井課長補佐 それでは、資料を整えまして、次回以降また御審議をお願いしたいと思います。よろしくをお願いします。

○今井田座長 大変熱いディスカッションを——気温が暑いのか省エネのために暑いのか、ディスカッションがホットで暑かったのかよくわかりませんが、ありがとうございました。座長の不手際でちょっとおくれましたことをお詫びいたします。

その他、事務局から何かありますか。

○角井課長補佐 1点御報告がございます。

6月28日、第96回本専門調査会において御審議いただきましたサッカリンカルシウムにつきましては、審議結果を平成23年7月14日開催の第390回食品安全委員会に御報告させていただき、同日より30日間パブリックコメントの募集を行うこととされました。

○今井田座長 それでは、全般について何かあればお願いします。よろしいでしょうか。

それでは、次回の予定をお願いします。

○角井課長補佐 次回会合につきましては、8月23日火曜日14時から御審議いただくことを予定しております。よろしくをお願いします。

○今井田座長 熱心の討論ありがとうございました。

以上をもちまして第97回添加物専門調査会を閉会いたします。